

# МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА

И.О.Стома, И.А.Карпов

МИНСК  
2018

УО «Белорусский государственный медицинский университет»  
ГУ «Минский научно-практический центр хирургии,  
трансплантологии и гематологии»

И. О. Стома, И. А. Карпов

## **МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА**

Минск  
«ДокторДизайн»  
2018

УДК 579.61+578.7

Стома И.О., Микробном человека / И.О. Стома, И.А. Карпов; Белорусский государственный медицинский университет, Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии. - Минск : ДокторДизайн, 2018. - 122 с.: ил. - ISBN 978-985-6913-91-7.

В монографии выполнен научный анализ современных знаний о микробиоме человека, а также представлены результаты наиболее значимых актуальных исследований.

Для врачей клинических специальностей, специалистов в области иммунологии, микробиологии, фармакологии, молекулярной биологии, а также читателям, интересующимся современной наукой и медициной.

Табл. 12. Ил. 31. Библиогр.: 512 назв.

Рекомендовано к изданию Учёным советом ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» (протокол № 5 от 03.08.2018 г.) и Научно-методическим советом УО «Белорусский государственный медицинский университет» (протокол № 1 от 19.09.2018 г.)

Рецензенты:

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор *Р.С. Козлов*,  
доктор медицинских наук, профессор *М.П. Костиков*,  
доктор медицинских наук, профессор *В.Н. Чеботкевич*  
доктор медицинских наук, профессор *А.Л. Усс*

*Воспроизведение и распространение в каком бы то ни было виде части или целого издания не могут быть осуществлены без письменного разрешения авторов.*

ISBN 978-985-6913-91-7

© Стома И. О., Карпов И. А., 2018  
© Оформление. ООО «ДокторДизайн», 2018

## Оглавление

1. Введение.....	9
2. Проект микробиома человека.....	10
3. Современные методы исследования микробиома и терминология.....	11
4. Структура и характеристики микробиома кишечника.....	14
5. Защитные функции микробиома кишечника.....	20
6. Фармакологические аспекты микробиома.....	26
7. Микробиом у пациентов с иммуносупрессией.....	35
8. Микробиом и инфекционные заболевания.....	55
9. Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) в клинической практике.....	69
10. Микробиом и неинфекционные заболевания.....	72
11. Перспективные методы коррекции микробиома.....	86
12. Перспективы изучения микробиома и виroma человека.....	89
13. Краткий конспект клинициста.....	89
14. Актуальные вопросы и ответы по теме микробиома человека.....	90

*Предисловие автора*

Дорогие читатели! Вашему вниманию представлена одна из первых русскоязычных работ о микробиоме человека. Новые молекулярно-генетические методы исследования микробного сообщества организма человека за прошедшие десять лет позволили ощутимо продвинуться в понимании того, насколько микробы и человек необходимы друг другу, и как это взаимодействие можно использовать в медицине. Основой для книги стали исследования, выполненные на базе Eric Pamer Lab в Мемориальном онкологическом центре им. Слоуна-Кеттеринга в Нью-Йорке (США). На сегодняшний день Центр изучения микробов, воспаления и рака, возглавляемый известным ученым, одним из основоположников науки о микробиоме Dr. Eric Pamer, обладает самой большой коллекцией образцов микробиома от пациентов с иммуносупрессией, а исследования, выполненные в этом центре учеными из многих стран, поменяли взгляды человечества на связь мира микробов и мира людей. Хотелось бы поблагодарить Eric G. Pamer за плодотворное сотрудничество, а также отметить вклад в книгу сотрудников его центра, а именно: Ying Taur, Eric R. Littmann, Sohn G. Kim, Simone Becattini, Ingrid M. Leiner. Планирование и проведение многих описанных в книге научных исследований осуществлялось в рамках программы им. Сенатора Фулбрайта, роль которой в современном международном научном сотрудничестве сложно переоценить. Слова искренней благодарности и безмерного уважения моим родителям, чья поддержка и мотивация стали основной движущей силой для создания этой книги!

*Игорь Олегович Стома, август 2018*

## Обозначения и сокращения

- ИСМП — инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи
- ТФМ — трансплантация фекальной микробиоты
- ПМЧ — Проект микробиома человека
- НИН — Национальный институт здравоохранения США (National Institutes of Health)
- 16s рРНК — 16s рибосомальная РНК
- ЖКТ — желудочно-кишечный тракт
- РНК — рибонуклеиновая кислота
- ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
- ОТЕ — операционная таксономическая единица
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- КЦЖК — короткоцепочечные жирные кислоты
- ИЛ — интерлейкин
- TLR — Толл-подобные рецепторы
- VRE — ванкомицин-резистентные энтерококки
- ЛПС — липополисахарид
- NOD1 — подсемейство Nod-подобных рецепторов (англ. Nod-like-receptor, NLR), цитоплазматические клеточные рецепторы
- Мезо-ДАПК — мезодиаминопимелевая кислота
- Г-КСФ — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор
- АПК — антигенпрезентирующие клетки
- CD — кластер дифференцировки (англ. cluster of differentiation) антигенов лейкоцитов человека
- ФНО-а — фактор некроза опухоли-альфа
- НК-клетки — естественные (натуральные) киллеры

APRIL — лиганд, индуцирующий пролиферацию (англ. A proliferation-inducing ligand)

УДФ — уридин-5-дифосфат

НПВС — нестероидные противовоспалительные средства

CGR-оперон — оперон редуктазы сердечных гликозидов (англ. cardiac glycoside reductase)

Анти-PD-1/PD-L1 препараты — терапевтические моноклональные антитела, приводящие к реактивации противоопухолевого иммунного ответа

CTLA4 — рецептор, находящийся на поверхности Т-лимфоцитов

ГСК — гемопоэтические стволовые клетки

ТГСК — трансплантация гемопоэтических стволовых клеток

МДС — миелодиспластический синдром

ПГСК — периферические гемопоэтические стволовые клетки

РТПХ — реакция «трансплантат против хозяина»

CMV — цитомегаловирус

VZV — вирус варицелла-зостер

HSV — вирус простого герпеса

VEB - вирус Эпштейна-Барр

АЧН — абсолютное число нейтрофилов

NF-κB — внутриклеточный сигнальный путь, универсальный фактор транскрипции

MALDI-TOF — матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (англ. Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization), масс-спектрометрия

LEfSe — линейный дискриминантный анализ размера эффекта

ESIL — Европейская конференция по инфекциям при лейкозах (European Conference on Infections in Leukaemia)

БЛРС — бета-лактамазы расширенного спектра

ОИТР — отделение интенсивной терапии и реанимации

NLM — Национальная медицинская библиотека США (National Library of Medicine)

ОШ — отношение шансов

NNT — число больных, нуждающихся в лечении (англ. number needed to treat), эпидемиологический показатель, используемый в оценке эффективности медицинского вмешательства

МПК — минимальная подавляющая концентрация

ГОНБ — грамотрицательные неферментирующие бактерии

MDR — мультирезистентные бактерии

КДАИ — *C. difficile*-ассоциированная инфекция

**АРМ — ампициллин-резистентная микробиота**

**ИВЛ — искусственная вентиляция легких**

**ЦНС — центральная нервная система**

**НЖБП — неалкогольная жировая болезнь печени**



## 1. Введение

На протяжении последних двух десятилетий микробное сообщество (микробиота) организма человека было признано фундаментальным фактором, определяющим физиологию и патологию хозяина. Триллионы бактерий обитают в желудочно-кишечном тракте млекопитающих, в том числе и людей, значительно расширяя возможности генома хозяина [1]. Это означает, что с помощью микроорганизмов человек способен выполнять функции, которые не кодируются собственным геномом, например: защита от инвазивных патогенов, извлечение дополнительной энергии из пищи, синтез ключевых молекул для развития собственных клеток и тканей. Более того, данные функции микробиоты весьма специализированы и различаются в зависимости от локализации микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте и других локусах тела человека [2-4]. Таким образом, сегодня одним из наиболее перспективных направлений исследований в медицине является изучение набора генов, ответственных за формирование микробиоты различных локализаций, а именно микробных сообществ желудочно-кишечного тракта, кожи, слизистых оболочек половых органов и др. Данные коллективные гены, которые охватывает микробиота человека, известны как микробиом человека. Он в подавляющем большинстве случаев превосходит кодирующую способность генома человека, составляя более 3-х миллионов генов [1]. Несмотря на существование выраженных индивидуальных отличий в структуре бактериальных видов, составляющих микробиом хозяина, многие микробные гены отвечают за аналогичные функции, что приводит к высокой функциональной избыточности микробиома. Такие перекрывающиеся функции и следует считать основными задачами микробиома, общими для здоровых людей [5,6]. Среди данных задач: биodeградация ряда неперевариваемых полисахаридов, синтез незаменимых аминокислот и витаминов, детоксикация ксенобиотиков [7,8]. Ассоциации спектра и характеристик микробиома уже доказаны в ряде инфекционных и неинфекционных заболеваний человека, а современные исследования вышли далеко за пределы классического понимания роли микроорганизмов в нормальной и патологической физиологии человека. Исследования микробиома теперь актуальны во многих областях науки, которые ранее считались никак не связанными с микроорганизмами, например: изучение циркадного ритма [9], нейрофизиология [10-12], онкология [13,14], судебно-медицинская экспертиза [15,16] и метаболические заболевания [17,18]. Более того, современные направления исследований включают изучение связей на уровнях: ось «микробиом кишечника-головной мозг», ось «микробиом кишечника-печень», ось «микробиом кишечника-дыхательная система».

Уже подтверждено, что микробиом человека имеет серьезное значение для поддержания здоровья человека и профилактики болезней. Одна из наиболее изученных ролей микроорганизмов человека заключается в обеспечении защиты от бактериальных патогенов. Это особенно важно в условиях стационаров, чтобы предотвратить инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП),

вызываемые бактериями, происходящими из желудочно-кишечного тракта. Комменсальная микробиота пациента имеет возможность исключить данные высокоустойчивые патогены из состава микробного сообщества ЖКТ, а также противостоять колонизации *de novo*.

Однако при определенных обстоятельствах у пациентов может сложиться ситуация с наличием недостаточно развитой дифференцированной микробиоты, которая будет не в состоянии защитить от колонизации экзогенными бактериями. Следовательно, такие пациенты становятся колонизированными внутрибольничным патогеном, зачастую устойчивым к антибиотикам, который затем может размножиться до высокой плотности, а желудочно-кишечный тракт будет служить важным резервуаром для опасных бактериальных патогенов. Данные процессы чреваты двумя серьезными проблемами. Во-первых, колонизированные пациенты служат носителями и распространителями внутрибольничных патогенов среди других пациентов, что способствует циркуляции возбудителей ИСМП в стационарах. Во-вторых, колонизирующий кишечник патоген может вызывать потенциально опасное для жизни заболевание, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом. Именно поэтому изучение микробиома человека поможет определять стратегии защиты от колонизации опасными патогенами и тем самым предотвращать тяжелые инфекции. На данном этапе, несмотря на то, что уже доказана роль микробиоты в предотвращении колонизации рядом патогенов, конкретные механизмы данной защиты еще не полностью определены и продолжают оставаться активной областью научных исследований. Время показало, что трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) уже вошла в рутинную практику онкологических и гематологических центров по всему миру. Следующим этапом должно стать создание индивидуальных терапевтических средств на основе защитных факторов микробиоты, что мы надеемся увидеть в ближайшие годы.

Целью данной монографии является обозначение современного уровня знаний в отношении микробиома человека, описание практических результатов внедрения микробиом-ассоциированных методов лечения, а также выявление наиболее перспективных направлений исследований в данной области.

## **2. Проект микробиома человека**

В 2010 году в журнале *Nature* была опубликована работа под названием «Наш другой геном» (*Our 'other' genome*). Именно тогда в контексте международных исследований начался активный пересмотр этиологии и патогенеза ряда инфекционных и неинфекционных заболеваний с учетом новых данных о микробиоме человека. Среди наиболее известных коллекций образцов микробиома в настоящее время лидирует собрание Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга, а именно лаборатория Эрика Памера.

Важной инициативой стал Проект микробиома человека (ПМЧ), являющийся частью исследовательской программы Национального института здравоохранения США (NIH), перед которой поставлена цель улучшения понимания харак-

теристик микробиоты, связанной со здоровьем и заболеваниями человека. Первая фаза программы, начатая в 2008 году, представляла собой проект, который длился пять лет и был направлен на выявление объема и базовых характеристик микробиоты человека. Вторая фаза, известная как интегративный Проект микробиома человека, была запущена в 2014 году с целью объединения ресурсов для выяснения роли микробов в поддержании здоровья человека и развитии конкретных заболеваний. Важными компонентами ПМЧ являются некультуральные методы оценки микробиоты, в частности метагеномика, а также секвенирование микробиома. В рамках проекта выполняется секвенирование гена 16s рРНК бактерий микробиоты человека [6].

Важно подчеркнуть, что, несмотря на различный видовой состав микробиома человека в различных локализациях (верхние и нижние дыхательные пути, верхние и нижние отделы ЖКТ, половые органы), метаболические пути бактерий остаются практически неизменными, что очередной раз подчеркивает значимость микробиома для биохимических и физиологических функций человека (Рис. 1)

### **3. Современные методы исследования микробиома и терминология**

Большинство исследований микробиома основано на определении последовательности переменных областей высококонсервативного гена, кодирующего 16s субъединицу рибосомальной РНК (16s рРНК) микроорганизмов. Этот ген повсеместно присутствует в бактериях, при этом отсутствует у млекопитающих и содержит девять гипервариабельных областей (от VI до V9), что позволяет идентифицировать различные бактерии посредством таксономического сопоставления полученных последовательностей с эталонными геномами из международных баз данных (Рис. 2). В зависимости от последовательностей и выбора баз данных идентификация может быть выполнена до видового уровня, но обычно она приводит к сочетанию видов, родов, типов организма. Для описания результатов такой идентификации обычно используется общий термин — операционная таксономическая единица (ОТЕ), объединяющий расшифрованные последовательности гена 16s рРНК с 97% идентичностью, что обычно достаточно для понимания видовой принадлежности микробов. Вышеописанный процесс называется метатаксономика, так как он описывает таксономический состав всего бактериального сообщества в биологическом образце. Важно помнить, что у метода имеется два нюанса. Во-первых, вирусы и грибы не имеют гена 16s рРНК (хотя похожие молекулярно-генетические методы идентификации, основанные на вариабельности участков гена 18s рРНК, доступны и для грибов) и, соответственно, не идентифицируются, хотя и являются неотъемлемой частью микробиоты. Во-вторых, этот процесс не позволяет предоставить информацию о функции микробиоты, что может быть исследовано уже только с помощью методов метагеномики, метатранскриптомики и метаболомики. Более подробно ключевые термины, используемые в современных научных исследованиях, определены в Таблице 1.

Таблица 1. Краткая современная терминология в области микробиома

Термин	Краткое определение
Микробиога	Набор микроорганизмов определенной локализации
Микробиом	Набор микроорганизмов, их генов и факторов внешней среды определенной локализации
Микобиом	Полный набор генов грибов в определенной локализации
Виром	Полный набор генов вирусов в определенной локализации
Метатаксономика	Метод глубокой таксономической характеристики микробиоты, как правило, с помощью 16s рРНК секвенирования
Метагеномика	Процесс определения состава генов представителей микробиоты, как правило, с помощью полногеномного секвенирования методом дробовика
Метатранскриптомика	Процесс определения и характеристики микробных генов, экспрессируемых микробиотой
Метаболомика	Исследование продуктов клеточного метаболизма в определенной локализации, включая как человеческие, так и микробные метаболиты
Секвенирование нового поколения	Методы параллельного секвенирования огромного количества короткоцепочечных фрагментов ДНК
Полногеномное секвенирование методом дробовика	Метод секвенирования множества фрагментов ДНК организма, на основе которых восстанавливается исходная последовательность цепи
Секвенирование гена 16s рРНК	Метод идентификации микроорганизмов на основе секвенирования переменных зон высококонсервативного бактериального гена 16s рРНК
Операционная таксономическая единица (ОТЕ)	Кластерное объединение результатов секвенирования гена 16s рРНК бактерий с 97% идентичностью, т.е. суррогатный таксономический уровень
Плотность микробиома	Общее количество бактерий в биологическом образце
Разнообразие микробиома	Количество различных видов/ОТЕ бактерий в образце
Плавность разнообразия микробиома	Мера распределения различных видов/ОТЕ в пределах образца; доминирование одного вида снижает плавность разнообразия
Альфа-разнообразие	Разнообразие видов в пределах биологического образца (индексы Chao 1, Шеннона, Симпсона)
Индекс Chao 1	Мера наблюдаемого/скрытого разнообразия
Индекс Шеннона	Мера разнообразия и плавности микробиома; более высокий индекс соответствует большему разнообразию
Индекс Симпсона	Мера доминирования вида в микробиоме
Бета-разнообразие	Разнообразие видов между двумя биологическими образцами

Если делать уточнение, то методология определения состава микробиома в образце, как правило, следующая. После экстракции и очищения ДНК в каждом из биологических образцов выполняется ПЦР-амплификация V4-V5 региона (или других гипервариабельных регионов) гена 16s рРНК с помощью модифицированных универсальных бактериальных праймеров. Очищенные ПЦР-продукты секвенируются с помощью автоматической платформы. Филогенетическая классификация до видового уровня может выполняться на основании Байесовской модели, а также различных баз данных, проверенных на химеризм генов 16s рРНК (например, *Greengenes*). Сиквенс-последовательности группируются в операционные таксономические единицы (ОТЕ) на основании 97% идентичности. Общее количество генов 16s рРНК рассчитывается на грамм биологического материала, т.е. мера бактериальной плотности определяется с помощью количественного ПЦР, исходя из общего количества генетического материала [20].

Стоит понимать, что полученные в результате этого массивы данных настолько объемны, что обработать и систематизировать их с помощью стандартных статистических пакетов, как правило, невозможно. Для этого в команде исследователей необходим специалист по анализу данных, программист или математик, который способен создать и апробировать математическую программную модель для анализа. Обычно обработка и анализ обширного массива (big data) клинических, микробиологических и филогенетических данных выполняется с помощью программного кода на языке R или Python. Код на языке R создается авторами применительно к данному исследованию, в свободной программной среде вычислений с открытым исходным кодом. Сегодня для наиболее объемных и комплексных математических вычислений все чаще применяется высокоуровневый язык программирования общего назначения Python.

Среди сложных математических моделей, используемых в исследованиях микробиома, стоит отметить следующие. Линейный дискриминантный анализ размера эффекта (LEfSe) применяется для выявления филогенетических предикторов. К время-зависимой регрессионной модели отношения рисков Кокса обращаются для выявления рисков клинических исходов и нарушений микробиома. В регрессионных моделях часто используется корректировка с помощью пенализированной вероятности Firth.

Читателю важно осознать тот факт, что классические микробиологические (культуральные) методы несостоятельны для исследования микробиоты человека. К сожалению, данные, полученные по результатам посевов на среды образцов стула, слюны, вдагалищного отделяемого и так далее, не отражают реального состава и плотности микробиоты этих локализаций. Более того, они вводят в заблуждение некоторых врачей и многих пациентов, что чревато неверными решениями, беспочвенным назначением антибиотиков и других лекарственных средств. В связи с этим современному врачу стоит исключить из своей лексики неизвестные в международном медицинском сообществе термины «дисбактериоз», «дисбиоз», основанные на неправомочных диагностических методах.

Примечательно, что большинство революционных результатов исследований микробиома были получены у мышей, даже несмотря на то, что микробиомы человека и мыши несколько различаются в плане родов микробов. Некоторые роды, такие как *Prevotella*, *Faecalibacterium* и *Ruminococcus*, больше распространены у людей, тогда как другие, а именно *Lactobacillus*, *Alistipes* и *Turicibacter*, более широко распространены у мышей [21]. Однако при идентификации ядра общих бактериальных таксонов становится ясно, что бактериальные сообщества кишечника мыши и человека очень похожи, особенно, если проанализировать их с функциональной точки зрения (то есть определить метаболические пути бактерий) [22,23]. Самое главное, что стерильные, освобожденные от микробов мыши, например, могут быть эффективно искусственно заселены микробными сообществами от людей, и при этом будут воспроизводиться эффекты, которые наблюдались у донора микробиоты [24]. Б подтверждение этой гипотезы было продемонстрировано, что заселение кишечника стерильных мышей микробами из кишечника пациентов с ожирением или, наоборот, с истощением, приводило к соответствующим нарушениям в энергетическом метаболизме у лабораторных животных [25-28]. Вместе это демонстрирует, что, несмотря на различия между видами, лабораторная мышиная модель является ценным инструментом для изучения микробиома человека.

#### **4. Структура и характеристики микробиома кишечника**

Эволюция микроорганизмов продолжалась в кишечнике животных длительное время, что привело к формированию сложной и богатой экосистемы. Кишечник млекопитающих густо заселен триллионами бактерий, принадлежащих к нескольким сотням различных видов [29]. Выделяют два вида разнообразия микробиоты человека: альфа-разнообразие (в пределах одного образца) и бета-разнообразие (между отдельными образцами). Несмотря на значительное разнообразие видов микроорганизмов в составе микробиоты, большинство представителей принадлежит только к четырем типам в современной биологической систематике: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Типы *Firmicutes* и *Bacteroidetes* составляют более 90% бактериальной популяции в толстой кишке, где плотность микробиоты наибольшая. При этом представители типов *Actinobacteria* и *Proteobacteria* практически всегда присутствуют в составе микробиоты в относительно невысоком содержании [3,30]. Ниже мы охарактеризуем подробнее представителей наиболее распространенных таксономических типов в составе микробиома человека.

##### **4.1 Bacteroidetes**

Тип *Bacteroidetes* представлен как анаэробными, так и аэробными непоробразующими грамотрицательными бактериями, которые колонизируют практически все пространство кишечника. Род *Bacteroides* является одной из

преобладающих групп в кишечнике в составе данного таксономического типа. Эти бактерии эффективно разлагают сложные полисахариды, устойчивые к пищеварительным ферментам человека. Биодegradация этих сложных углеводов дает на выходе набор короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), а именно ацетат, пропионат и бутират, которые реабсорбируются организмом хозяина и вовлекаются в биохимические энергетические процессы. Кроме того, КЦЖК участвуют в регулировке дифференциации эпителиальных клеток кишечника [31], созревании и стимуляции иммунной системы [32], а также ряда других важных биологических процессов.

Несмотря на то, что представители рода *Bacteroides* вносят важный вклад в метаболические процессы человека и в целом поддерживают комменсальные отношения с хозяином, некоторые представители обладают потенциалом патогенности при резком повышении их относительной плотности в просвете кишечника. Примером является *Bacteroides fragilis*, который обычно локализуется в нижних отделах кишечника и, как было ранее показано, оказывает благотворное влияние на организм человека, например стимулирует развитие иммунной системы [33]. Однако, в то же время *Bacteroides fragilis* является одним из облигатных анаэробов, которые чаще всего вызывают инфекционные осложнения. Наиболее распространенной клинической формой в таких ситуациях являются интраабдоминальные абсцессы и инфекции кровотока, особенно у пациентов с нарушением барьерной функции слизистой кишечника или ее перфорацией.

Большинство представителей рода *Bacteroides*, колонизирующих кишечник, не являются этиологическими предпосылками возникновения кишечных инфекций, за одним исключением: энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis* продуцируют токсин *B. fragilis*, который вызывает колит, а ранее также ассоциировался с риском развития опухолей толстой кишки [34,35]. Кроме того, у представителей рода *Bacteroides* spp. отмечается наличие целого ряда механизмов антибиотикорезистентности и регистрируются наиболее высокие уровни устойчивости к антибиотикам среди всех облигатных анаэробов [36].

## 4.2 Firmicutes

Тип Firmicutes представлен как облигатными, так и факультативными анаэробными бактериями. Большинство представителей типа являются грамположительными бактериями и способны формировать эндоспоры, обеспечивая экологическое преимущество для выживания в неблагоприятных условиях. В форме эндоспор данные бактерии могут выживать при отсутствии питательных веществ и являются чрезвычайно устойчивыми к воздействию кислорода, ультрафиолетовому излучению, высушиванию, экстремальным температурам и дезинфицирующим средствам. Данные формы позволяют представителям типа Firmicutes длительное время находиться в состоянии покоя и возвращаться к метаболически активному состоянию в благоприятных условиях.

Один из наиболее клинически значимых классов в составе типа Firmicutes —

это класс Clostridia, который в связи с высокой гетерогенностью дополнительно разделен на кластеры. Именно среди представителей кластеров Clostridium XIVa и IV были выявлены полезные микроорганизмы, принимающие участие в реализации функций ЖКТ человека. Установлено, что данные бактерии концентрируются в складках слизистой оболочки кишечника, поддерживая и регулируя функции кишечного эпителия [37]. Виды в составе данных кластеров, так же как и представители Bacteroides spp., продуцируют КЦЖК (бутират) в результате процессов ферментации, что способствует поддержанию функции кишечного эпителия. К тому же было выявлено, что представители этих кластеров поддерживают локальный иммунный гомеостаз кишечника посредством привлечения регуляторных Т-лимфоцитов толстого кишечника [38].

Стоит подчеркнуть, что другие кластеры класса Clostridia включают важные патогены, которые могут вызывать инфекционные заболевания человека, а именно: представители кластера I — *C. perfringens* и *C. tetani*, а также кластера XI — *C. difficile* [39]. Наконец, еще один клинически значимый класс в составе типа Firmicutes — это класс Bacilli. Известными его представителями являются кислородоустойчивые бактерии *Enterococcus* spp. и *Streptococcus* spp., которые обычно определяются в кишечнике в низком относительном содержании, но обладают потенциалом к избыточному росту при различных патологических состояниях [40].

#### 4.3 Actinobacteria

Тип Actinobacteria состоит как из аэробных, так и анаэробных грамположительных бактерий, однако отличается от типа Firmicutes более высоким содержанием гуанина и цитозина в структуре ДНК. Bifidobacteria spp. являются наиболее распространенными обитателями ЖКТ в рамках данного типа [29]. Ранее было показано, что отдельные виды в пределах этого рода, в том числе *B. longum*, имеют пробиотические функции. В частности, данные микроорганизмы обеспечивали защиту от кишечных патогенов с помощью ряда процессов, а именно: прямой конкуренции, активности гидролазы желчных кислот, модуляции локального иммунного ответа и способности создавать высокую пристеночную концентрацию вблизи кишечного эпителия [2,41].

#### 4.4 Proteobacteria

Тип Proteobacteria включает в себя широкий спектр грамотрицательных микроорганизмов. В то время как основную массу бактерий ЖКТ составляют облигатные анаэробы, представители типа Proteobacteria являются факультативными анаэробами. Несмотря на то, что протеобактерии являются естественными обитателями ЖКТ человека, как правило, они являются меньшинством в структуре здорового дифференцированного микробиома. В составе типа стоит отметить семейство Enterobacteriaceae (класс Gammaproteobacteria), включающее многих возбудителей инфекционных осложнений, а именно *Escherichia coli* и *Klebsiella* spp., которые обычно регистрируются в микробиоме ЖКТ в низком количестве, но



имеют потенциал для чрезмерного роста и кишечного доминирования на фоне антибиотикотерапии и отдельных заболеваний [20,40].

#### 4.5 Анатомическое распределение микробиоты

С точки зрения расположения микроорганизмов и условий локального биоценоза ЖКТ человека состоит из желудка, тонкой кишки, слепой кишки, ободочной кишки и прямой кишки. Имеется несколько важных показателей, претерпевающих изменения в среде вдоль этого тракта. Например, pH и концентрация кислорода значительно меняют свои уровни, начинаясь от кислой среды и аэробных условий желудка и перетекая в нейтральную и анаэробную среду толстой кишки. Кроме того, источники питательных веществ для колонизирующих микроорганизмов меняются на протяжении всей длины ЖКТ [42]. В частности, наиболее простые углеводы всасываются в терминальной подвздошной кишке, и, следовательно, в отделах ЖКТ ниже илеоцекального клапана бактерии усваивают непереваренные хозяином углеводы, сложные молекулы, а также мукопротеины. В результате комбинации вышеописанных факторов бактерии имеют специфическое распределение в кишечнике человека. В толстой кишке общая плотность бактерий больше, чем в тонком кишечнике. В целом, в составе микробиоты тонкой кишки преобладают представители Lactobacillales или Proteobacteria. Однако в толстом кишечнике уже Bacteroides и Clostridiales становятся доминирующими в составе микробиоты [43].

#### 4.6 Возрастная динамика микробиоты у детей

Эволюция и созревание кишечного микробиоты на ранних стадиях жизни являются важным фактором поддержания здоровья, а нарушение на ранних этапах формирования микробного сообщества у ребенка предрасполагает к развитию заболеваний, как в младенчестве, так и в зрелом возрасте, что наиболее изучено в контексте аллергических заболеваний и метаболических синдромов.

Особенно интересно то, что после родов естественным путем микробиота новорожденных заселяется бактериями родового канала матери, а у новорожденных после выполнения кесарева сечения микробиота заселяется в основном бактериями, населяющими кожу взрослого человека, при этом стрептококки становятся доминирующим видом в составе микробиоты у таких детей [44]. Также было высказано предположение, что данное обстоятельство может представлять собой фактор, предрасполагающий к последующему развитию инфекций в детском возрасте [44]. Весьма значимыми являются результаты исследования, в ходе которого авторы после проведения кесарева сечения выполняли обработку кожных покровов новорожденных тампоном, смоченным в содержимом влагалища матери, что приводило к формированию адекватного состава микробиоты, сходного с характеристиками микробиоты детей после родов через естественные родовые пути [45].

Исследования, включающие тысячи детей, выявили связь между использованием антибиотиков в течение первого года жизни и риском развития бронхиальной астмы к 6-7 годам [46-49]. Более того, отдельные авторы приводили данные о повышении риска развития бронхиальной астмы у детей дошкольного возраста, чьи матери получали антибиотики в третьем триместре беременности [50,51]. Финскими исследователями было выявлено, что назначение макролидов у детей в возрасте 2-7 лет приводит к формированию особого профиля микробиоты, характеризующегося потерей представителей Actinobacteria и увеличением плотности Bacteroidetes и Proteobacteria, индукцией генов антибиотикорезистентности и снижением активности гидролаз желчных кислот. При этом данный профиль микробиоты положительно коррелировал либо с развитием впоследствии бронхиальной астмы, либо с увеличением индекса массы тела [52]. Связь применения антибиотиков в первый год жизни и повышения индекса массы тела у мальчиков в возрасте 5-8 лет впоследствии была также отражена в британском исследовании, где авторы подчеркнули роль микробиома в регуляции массы тела [53].

В дополнение к обсервационным исследованиям с участием людей имеются экспериментальные исследования о влиянии антибиотиков на микробиоту и заболевания у мышей. В частности, исследователями было продемонстрировано, что введение антибиотиков новорожденным мышам приводило к выраженным изменениям состава микробиома и впоследствии к развитию осложненных астматических эпизодов после интраназальной нагрузки овальбумином, чего, однако, не наблюдалось при введении антибиотиков уже взрослым особям [54]. Важность вертикальной передачи микробиоты во время беременности подчеркивается в опубликованной работе о наибольшем отрицательном влиянии введения малых доз пенициллина на состав микробиома именно в ранние сроки гестации [55]. Авторы в эксперименте на мышах показали, что у животных, получивших малые дозы пенициллина во время гестации, впоследствии отмечалось увеличение массы тела, повышение содержания жировой ткани в организме, а экспрессия генов, кодирующих отдельные важные белки (RegHPy, (3-дефензины и ИЛ-17), была снижена.

Интересным примером со стороны животного мира является инстинкт употребления новорожденными жеребятами экскрементов матери. При этом данный инстинкт проявляется у различных пород животных вне зависимости от географической зоны обитания (Рис. 3). Долгое время в ветеринарии выдвигались предложения о восполнении таким образом дефицита отдельных нутриентов, однако в связи с внедрением молекулярно-генетических методов исследования, на сегодняшний день вполне ясно, что это инстинктивный метод заселения микробиома кишечника и стимуляции иммунной системы, которая характеризуется незрелостью механизмов даже у доношенных жеребят [56].

Таким образом, воздействие антибиотиков даже на короткие промежутки времени и особенно во время беременности и детского возраста оказывает долговременное воздействие на микробиом, что может впоследствии повышать риск раз-

вития целого ряда заболеваний. Это, очевидно, представляет собой чрезвычайно важное значение для общественного здравоохранения и стратегии назначения антибиотиков в акушерстве и гинекологии, а также педиатрии.

Нормальная хронология созревания и заселения микробиоты кишечника у детей представлена на Рис. 4-6 (пояснения в тексте). На 1-м этапе постнатального заселения бактериями (дни 3-84) микробиом кишечника у детей содержит ограниченный набор представителей типа Firmicutes. Второму этапу заселения предшествует увеличение количества представителей Proteobacteria (дни 92-100), что часто совпадает с ранее необъяснимыми эпизодами лихорадки у детей. Количество Actinobacteria и Proteobacteria увеличивается на 2-м этапе, а видовой состав Firmicutes на данном этапе выражено отличается от первоначального. На 3-м этапе формирования микробиома введение детского питания в дополнение к грудному молоку и приобщение к «взрослому» столу ассоциируется с увеличением количества Bacteroidetes (дни 172-297), что также продолжается и на 4-м этапе (дни 454-838), однако конкретные представители типа Bacteroidetes в микробиоме отличаются между этими двумя этапами.

Период выраженного перехода в структуре микробиома между 3-м и 4-м этапами (дни 371-441) может быть обусловлен рядом факторов внешней среды, имеющих влияние на ребенка, например: первый контакт с антибиотиками, исключение грудного молока и питательных смесей из рациона питания, введение коровьего молока и полноценной взрослой диеты. Интересно, что микробиом переходного периода, предшествующего 4-му этапу, содержит микроорганизмы, типичные для уже завершеного первого этапа, которые можно трактовать как следы неонатального микробиома.

Стоит отметить, что видовой состав микробиома у ребенка относительно стабилен именно на 4-м этапе, что было подтверждено метагеномным анализом более 400 образцов [57]. Введение в рацион питания продуктов со взрослого стола приводит к выраженному сдвигу в типовом составе микробиома, а также увеличивает абсолютное количество бактерий и КЦЖК в кишечнике ребенка. Резкое и устойчивое повышение уровня бактерий типа Bacteroidetes после начала регулярного прикорма ребенка вполне объяснимо: именно данные бактерии специализируются на ферментации сложных растительных полисахаридов [58]. Кроме того, в экспериментальных работах на мышах включение растительных углеводов в схему питания также незамедлительно повышало уровень Bacteroidetes в составе кишечного микробиома [59]. В то же время высокая метаболическая активность данных бактерий прямо или косвенно приводит к увеличению продукции КЦЖК (ацетата, пропионата, бутирата) в кишечнике. Более того, было продемонстрировано, что низкое содержание Bacteroidetes в кишечном микробиоме ассоциируется с ожирением, что само по себе может наблюдаться на фоне диеты, бедной сложными растительными полисахаридами [60,61]. Таким образом, вместе эти результаты подтверждают мнение о том, что диета с высоким содержанием продуктов растительного происхождения способствует созданию

разнообразного и полноценного микробного сообщества кишечника, в том числе и у детей, а также адекватному производству энергетических субстратов и метаболитов, необходимых организму человека.

### Ключевая информация раздела

Микробиом кишечника человека состоит из приблизительно 100 триллионов бактерий, принадлежащих *нескольким* сотням различных видов [29]. Микробиом включает в себя 4 основных типа бактерий, охватывающих более 90% общей популяции микроорганизмов, а именно типы: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, а также ряд более редких типов — Verrucomicrobia и Fusobacteria. Соотношение и состав данных типов бактерий значительно варьируется вдоль желудочно-кишечного тракта, а также изменяется под влиянием различных факторов внешней среды и доступности питательных веществ [3]. Эволюция и созревание микробиома у детей проходит в 4 этапа и характеризуется как количественным, так и качественным изменением состава бактерий кишечника, происходящим под влиянием перемены рациона питания и внешних факторов.

## 5. Защитные функции микробиома кишечника

### 5.1 Стимуляция развития иммунной системы

Непосредственная близость сконцентрированных популяций бактерий к слизистым и наружным покровам человека создает потенциальный риск инвазии, поэтому иммунная система наиболее тщательно контролирует бактерии, колонизирующие просвет кишечника. Однако, несмотря на строгий иммунный контроль, микробиота благополучно сохраняет за собой право на данную территорию, в том числе регулируя функции подлежащей ткани кишечника.

Экспериментальные работы в области иммунологии показали, что антибиотикотерапия осложняла течение колита у мышей (в модели индукции декстран-сульфатом натрия) посредством снижения количества микробных лигандов, ассоциированных с Толл-подобными рецепторами (TLR), что в норме обеспечивает экспрессию медиаторов тканевого гомеостаза и восстановление поврежденных тканей [63].

Основные системы иммунитета человека полагаются на бактериальные сигналы для правильной работы, в частности для калибровки уровня ответа и поддержания напряженности иммунитета (Рис. 7). Выделенный из микробиоты липополисахарид (ЛПС) поддерживает экспрессию базального уровня RegIII-у (бактерицидный лектин С-типа) в эпителиальных клетках кишечника и клетках Панета. К примеру, RegIII<sub>у</sub> не обнаружен у стерильных (безмикробных) лабораторных мышей [64], и даже кратковременная антибиотикотерапия ухудшает его экспрессию у нестерильных мышей, что делает их восприимчивыми к инфекции, вызванной ванкомицин-резистентными энтерококками (VRE), при этом данный дефект является обратимым при пероральном введении ЛПС [65]. Подобным образом

флагеллин бактерий кишечника способствует поддержанию экспрессии RegIII $\alpha$  в клетках человека. Именно флагеллин посредством воздействия на рецепторы TLR5 дендритных клеток слизистой оболочки кишечника стимулирует выделение ИЛ-22 и последующую экспрессию RegIII $\alpha$  в эпителиальных клетках кишечника [66,67].

Гранулоциты также контролируются сигналами бактерий-комменсалов, чьи медиаторы оказывают воздействие в том числе и на клетки костного мозга человека. В эксперименте NOD1-опосредованное воздействие на мезодиаминопимелевую кислоту (мезо-ДАПК), как часть пептидогликана бактерий, способствует усилению нейтрофильной реакции на патогены, а именно на *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus pneumoniae* [68]. У изначально стерильных мышей в ходе опыта мезо-ДАПК появлялась в крови и костном мозге в течение трех суток после колонизации *E. coli*. Это доказывает, что бактериальные лиганды из просвета кишечника характеризуются системным распределением и, следовательно, приводят к системным эффектам [68]. Кроме того, перинатальное введение антибиотиков в процессе эксперимента отрицательно влияло на количество и функции нейтрофилов у мышей, ухудшая продукцию гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и ИЛ-17, а также повышая риск сепсиса, вызванного *E. coli* или *K. pneumoniae* [69]. Подобным образом антибактериальная терапия приводила к нарушениям в крови и базофильному росту костного мозга у мышей, создавая отрицательный эффект посредством цепи TLR2-ИЛ-4<sup>-</sup>E, следствием чего становились осложненные аллергические синдромы [70]. Функция антиген-презентирующих клеток (АПК) также зависит от бактерий микробиоты. К примеру, доказано, что миграция дендритных клеток и продукция ИЛ-1(3)/ИЛ-18 нарушены у пролеченных антибиотиками мышей на фоне инфицирования их вирусом гриппа [71]. Логично, что в данном эксперименте уровни иммуноглобулинов, количество Т-клеток и продукция интерферона- $\gamma$  также были снижены, что привело к увеличению титров вируса. Весьма интересно, что введение в кишечник агонистов TLR-рецепторов восстанавливало иммунный ответ в дыхательной системе лабораторных животных в этом исследовании, указывая на то, что микробные сигналы из кишечника способны регулировать и восстанавливать системный иммунный ответ, в том числе опосредованный другими органами и тканями.

Опубликованы данные о том, что антибиотики нарушают иммунный ответ на вирус лимфоцитарного хориоменингита у мышей, снижая экспрессию антивирусных генов в макрофагах легочной ткани, что приводит к дефектам функции CD8<sup>+</sup> Т-клеток, а также снижению продукции интерферона- $\gamma$ /ФНО- $\alpha$  и иммуноглобулинов класса G [72]. В другом исследовании отражено, что макрофаги селезенки у стерильных и пролеченных антибиотиками мышей теряли способность к адекватному взаимодействию с NK-клетками из-за недостатка хроматина в промоторной области генов, кодирующих важные цитокины, такие как интерфероны ( $\alpha$ ,  $\beta$ ), ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  [73]. Таким образом, в результате введения антибиотиков лабораторные животные не могли контролировать уровень вируса на фоне

экспериментального инфицирования цитомегаловирусом мыши. Функция Т-лимфоцитов также страдает при нарушении взаимодействия между иммунной системой и микробиотой, как и В-клеточное звено иммунитета. Было доказано, что титры иммуноглобулинов ниже у мышей, которые получали антибиотики до момента развития вирусной инфекции [71,72]. Более того, опыты показали, что наличие ЛПС-бактериальной природы необходимо для созревания В1-субпопуляции лимфоцитов в селезенке и поддержания базального уровня циркулирующих иммуноглобулинов класса М, которые играют защитную роль в экспериментальных моделях сепсиса у мышей [74].

Неожиданным открытием явилось то, что микроорганизмы кишечника способны модулировать результаты вакцинации. Опубликованные данные из исследований трехвалентной инактивированной вакцины против гриппа и других неадьювантных вакцин говорят о том, что вакцинация индуцирует продукцию иммуноглобулинов классов М и G посредством TLR-5-зависимого пути с помощью микробиоты у мышей и, возможно, у людей, что подтверждалось корреляцией уровней экспрессии TLR-5 на лейкоцитах и титров антител против вируса гриппа в группе после вакцинации [75]. Лабораторные животные после введения антибиотиков, а также с дефицитом TLR-5 отличались дефектами продукции антител после вакцинации, однако введение бактериального флагеллина в качестве агониста TLR-5 восстанавливало гуморальный ответ. Стимуляция TLR-5 влияла на плазматические клетки, увеличивая выживаемость, дифференцировку и продукцию антител, а также на макрофаги лимфатических узлов, что приводило к образованию важных факторов иммунного ответа: ФНО-а, ИЛ-6 и белка APRIL (A proliferation-inducing ligand; лиганд, индуцирующий пролиферацию).

Описанные работы демонстрируют выраженное влияние микробиома кишечника на иммунный ответ организма человека. В настоящее время данная ассоциация исследуется в контексте различных патологических состояний и терапевтических подходов. В этой связи особенно перспективно применение препаратов микробиома кишечника для модуляции эффективности иммунотерапии рака, что сегодня становится областью активных научных исследований.

## **5.2 Устойчивость к колонизации патогенами**

### **5.2.1 Первые опубликованные исследования**

Микробиота кишечника играет решающую роль в удалении из организма человека инородных бактерий и предотвращении избыточного роста потенциально опасных малочисленных бактерий, колонизирующих ЖКТ. Полезные функции бактерий, населяющих ЖКТ человека, обсуждались еще лауреатом Нобелевской премии Ильей Мечниковым, идеи которого послужили основой многим поколениям исследователей (Рис. 31). Роль микробиоты в защите хозяев от кишечных патогенов была официально подтверждена в опубликованных исследованиях Vohnhoff и соавторов, вышедших в англоязычной научной прессе с начала 1950-х годов [76-78]. Коллектив авторов занялся изучением вопроса,

по какой причине у пациентов, проходящих лечение антибиотиками, часто развиваются вторичные инфекции. В эксперименте исследователи продемонстрировали, что мыши, получавшие перорально стрептомицин, имели пониженную плотность бактерий в кишечнике, а также отличались повышенной восприимчивостью к *Salmonella enterica* subsp. *enteritidis*, при этом восприимчивость к инфекции была практически в 6 раз выше, чем у непролеченных антибиотиком особей. В нескольких последующих исследованиях авторами использовались сочетания различных экспериментальных моделей, патогенов и антибиотиков, что также приводило к повышенной восприимчивости к инфекционным агентам после антибиотик-ассоциированного повреждения микробиоты кишечника (Рис. 8). По результатам данной работы был предложен термин «устойчивость к колонизации», который определял многогранную систему защиты от патогенов, реализуемую здоровой и дифференцированной микробиотой кишечника [79].

### 5.2.2 Поддержание эпителиального барьера

Слизистый слой покрывает и защищает кишечный эпителий, сохраняя таким образом пространственную границу между колониями бактерий и эпителиальным барьером человека [80]. Толщина слизистого слоя зависит от плотности микробиоты в кишечнике. К примеру, стерильные (безмикробные) мыши имеют более тонкий слой слизи над эпителием кишечника, который однако может вырасти до стандартного размера после искусственного введения веществ бактериального происхождения, т.е. липополисахарида или пептидогликана [81].

Однако ряд патогенов, таких как *C. difficile*, способны нарушать эпителиальный барьер кишечника, повреждая эпителиальные клетки и приводя к инвазивным формам инфекции. Внутриклеточный сигнальный путь NF-κB является основным механизмом восстановления эпителиального покрова кишечника. Ранее было показано, что активируемая NF-κB путем транскрипции уменьшает повреждение эпителиальных клеток и способствует восстановлению тканей [82,83]. Бактерии здорового кишечного микробиома являются одним из факторов активации NF-κB-ассоциированной транскрипции в клетках кишечного эпителия и тем самым поддерживают целостность эпителиального барьера кишечника человека [63,84]. Сигнальный путь NF-κB также индуцирует антиапоптотические факторы, стимулирует пролиферацию и усиливает межклеточные взаимодействия [83]. Опубликованы данные о том, что в ходе эксперимента стимуляция бактериальным агонистом TLR-5 флагеллином улучшала выживаемость и снижала потерю веса у мышей в модели острой *C. difficile*-ассоциированной инфекции посредством активации NF-κB сигнального пути. Таким образом, системное введение флагеллина значительно уменьшало уровень колонизации кишечника *C. difficile*, а также продукцию токсинов. Более того, патогистологическое исследование слепой и толстой кишки показало, что введение бактериального флагеллина защищало от *C. difficile*-ассоциированного повреждения эпителиальных клеток, тем самым сохраняя структурную целостность стенки кишечника [85]. В результате

сохраненный эпителиальный барьер не позволяет патогену привести к развитию системной инфекции, а клетки иммунитета хозяина начинают концентрироваться в очаге скопления возбудителя.

Таким образом, современные данные молекулярной биологии свидетельствуют о том, что микробиота отвечает за базальную стимуляцию иммунных рецепторов человека, функция которых заключается в предупреждении массивного повреждения эпителиальных барьеров. Эти клетки хозяина обязаны реагировать на микробное повреждение эпителия путем продуцирования слизи, усиления процессов транскрипции, а также привлечения клеток иммунной системы в очаг воспаления.

### 5.2.3 Микробиом-ассоциированный метаболизм желчных кислот

В дополнение к взаимодействию с иммунной системой хозяина представители микробиоты вступают в совместный метаболизм ряда биохимических веществ человека, в том числе с желчными кислотами, преобразовывая их в токсичные продукты распада, которые способны ингибировать рост патогенов, например *C. difficile*. Желчные кислоты продуцируются в печени и секретируются желчным пузырем в просвет ЖКТ с целью эмульгирования жиров в процессе пищеварения. Большинство из них реабсорбируются в терминальном отделе подвздошной кишки, однако небольшая оставшаяся часть попадает далее, в толстый кишечник, где множество бактерий микробиоты способно превращать их во вторичные желчные кислоты.

Первичные желчные кислоты, попавшие в толстый кишечник, проходят процесс деконъюгации с помощью многих видов бактерий, секретирующих гидролазы желчных кислот. Затем уже более ограниченное количество видов бактерий осуществляет дегидроксирирование неконъюгированных желчных кислот, что приводит к образованию вторичных желчных кислот [86]. Важно отметить, что желчные кислоты существенно различаются по влиянию на микроорганизмы. В то время как таурохолевая кислота (первичная желчная кислота) способствует прорастанию спор *C. difficile* в вегетативные клетки, вторичные желчные кислоты ингибируют рост вегетативных токсин-продуцирующих клеток возбудителя [87].

В одном из опубликованных исследований авторы применяли сложное математическое моделирование для определения видов комменсальных бактерий, участвующих во вторичной конверсии желчных кислот, что коррелировало с резистентностью к развитию *C. difficile*-ассоциированной инфекции как в лабораторной модели на мышах, так и у госпитализированных пациентов. По результатам математического моделирования был выделен особый представитель микробиоты — комменсальный анаэроб *Clostridium scindens*, который продемонстрировал выраженную защитную функцию. Стоит отметить, что *C. scindens* участвует в трансформации первичных желчных кислот во вторичные, в частности в дезоксихолевую и литохолевую кислоты. Эти вторичные желчные кислоты ингибируют рост *C. difficile*, причем отличаются дозозависимым эффектом.



Интересно, что фермент 7 $\alpha$ -гидроксистероиддегидрогеназа, ответственный за трансформацию первичных желчных кислот во вторичные, является частью индуцируемого желчной кислотой оперона, который был также идентифицирован в геноме *C. scindens* в процессе молекулярно-генетических исследований. Кроме того, секвестрация желчных кислот с помощью холестирамина нейтрализует ингибирующее действие *C. scindens* на рост *C. difficile* [88]. Итак, вместе данные опубликованные экспериментальные работы подтверждают, что защитная бактерия микробиома человека *C. scindens* препятствует размножению и токсин-продуцированию *C. difficile* с помощью процесса трансформации первичных желчных кислот человека во вторичные, что представлено на Рис. 9.

#### 5.2.4 Продукция иншбиторных короткоцепочечных жирных кислот

В экспериментальных исследованиях на лабораторных животных уже было показано, что важнейшим защитным барьером на пути патогенов являются ингибиторные короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК): ацетат, пропионат и бутират, которые продуцируются нормальными представителями дифференцированной кишечной микробиоты. Исследовательской группой из США было продемонстрировано, что данные жирные кислоты, будучи терминальными продуктами расщепления растительных пищевых волокон с помощью кишечных бактерий, являются противовоспалительными медиаторами кишечника и играют важнейшую роль в кишечном гомеостазе [90]. Более того, роль КЦЖК была обозначена в развитии бронхиальной астмы, аллергических и аутоиммунных заболеваний [91]. Именно поэтому создание терапевтических препаратов на основе данных кислот сегодня является активным научным направлением.

Характер питания оказывает большое влияние на состав, разнообразие и плотность кишечной микробиоты. Различные компоненты рациона питания определяют наличие конкретных бактерий в кишечнике человека. Устоявшиеся пищевые привычки ведут к определенным сдвигам в человеческом микробиоме, в частности, повышенное потребление животных белков и жиров стимулирует рост представителей рода *Bacteroides*, а повышенное потребление растительных углеводов увеличивает численность рода *Prevotella*. Данные характерные микробные пейзажи, ассоциированные с пищевыми стереотипами, получили название энтеротипы [92]. С точки зрения влияния на микробиом принято разделять общество на популяции с «западным» и «традиционным» типами питания. Последние потребляют гораздо более высокие пропорции растительной клетчатки, и этот диетический компонент способствует разнообразию их микробиома. Ранее Sonnenburg и соавт. исследовали последствия недостатка растительной клетчатки в рационе питания у мышей, колонизированных человеческой микробиотой, и показали, что подобная диета привела к стойкому уменьшению микробного разнообразия, которое не возвращалось в норму даже при нормализации диеты [93].

Низкий уровень потребления растительной клетчатки приводит не только к уменьшению микробного разнообразия и продукции КЦЖК, но и к изменению

микробиом-ассоциированного метаболизма в кишечнике, в частности, происходит сдвиг к использованию менее эффективных энергетических субстратов, а именно эндогенных белков и мукопротеинов хозяина [94-96]. В одном из исследований добровольцам назначалась высокобелковая низкоуглеводная диета, что приводило не только к уменьшению продукции КЦЖК, и в особенности бутирата, но также к увеличению потенциально токсичных метаболитов, полученных в результате ферментации аминокислот, а именно: разветвленные жирные кислоты; аммиак; амины; N-нитрозосоединения; соединения на основе фенола, включая п-крезол; сульфиды; индольные соединения и сероводород [97]. Растительные волокна и КЦЖК (ацетат и бутират) стимулируют продукцию и секрецию слизи в кишечнике. Один из активных продуцентов ацетата и бутирата, *Bacteroides thetaiotaomicron*, способствует дифференциации бокаловидных клеток кишечника и экспрессии генов, ответственных за синтез муцина. С другой стороны, *Faecalibacterium prausnitzii*, потребитель ацетата и продуцент бутирата, снижает стимулирующий эффект ацетата на слизеобразование и предотвращает перепроизводство слизи, тем самым сохраняя гомеостаз кишечного эпителия [98]. К тому же отмечено, что волокна растительной клетчатки способны механически стимулировать выделение слизи эпителием кишечника [99]. Стоит напомнить также, что диета с высоким содержанием растительной клетчатки увеличивает плотность комменсальных бактерий микробиома, которые ограничивают доступ патогенных бактерий к кишечному эпителию. Опубликованные данные свидетельствуют о том, что КЦЖК могут также способствовать секреции иммуноглобулинов класса А, которые синтезируются В-клетками слизистой оболочки кишечника [100]. И наконец, КЦЖК играют особую роль в процессах репарации тканей кишечника, что наиболее важно при воспалительных заболеваниях, а также химиотерапии.

## 6. Фармакологические аспекты микробиома

Антибиотики необходимы для лечения и профилактики широкого спектра потенциально опасных для жизни бактериальных инфекций. Бесчисленные жизни спасены с помощью антибиотиков по всему миру. Однако в последние годы исследования в области микробиома показали, что чрезмерное, длительное, неадекватное применение антибиотиков, а также их биохимические характеристики могут стать причиной опасных последствий для здоровья человека. Среди таких последствий: нарастание антибиотикорезистентности бактерий, появление доминирующих в микробиоме колонизаторов, кратковременная или стойкая потеря видового разнообразия микробиома, а также повышение восприимчивости к инфекционным заболеваниям [101-105]. В свете обозначенных проблем подробное изучение фармакокинетических и фармакодинамических аспектов антибиотикотерапии позволит выполнять грамотную коррекцию препаратов и режимов дозирования в соответствии с данными о микробиоме человека.

Сегодня, несмотря на большой интерес к исследованиям в области микробио-

ма, связь между микробиомом и современной фармакологией остается крайне недооцененной. Открытие того факта, что бактерии кишечника человека участвуют в метаболизме лекарств произошло практически столетие тому назад [106]. Эксперименты с сульфаниламидным антимикробным препаратом пронтозилом (т.н. красным стрептоцидом), одним из первых коммерчески доступных антибактериальных средств, продемонстрировали, к удивлению ученых, весьма слабую антибактериальную активность *in vitro* [107]. Как оказалось, это связано с тем, что именно кишечные микроорганизмы активировали пронтозил посредством его азо-группы (химическая связь, состоящая из N=N), что давало клинический эффект лекарства у пациентов, но не позволяло препарату активно угнетать бактерии *in vitro*, будучи по сути пролекарством. Данная биотрансформация характерна для широкого спектра химических соединений, в т.ч. азокрасителей (самый многочисленный класс синтетических красителей), которые обычно применяются в качестве добавок в пищевых продуктах [108], а также для сульфасалазина, который до сих пор широко используется в лечении язвенного колита и ревматоидного артрита [109,110]. Вскоре после этих открытий стало ясно, что биотрансформация лекарств микробиотой кишечника — гораздо более частое явление, чем ранее считалось, однако данные идеи изучались только частично из-за сложностей в анализе микробных сообществ кишечника с использованием традиционных культуральных методов микробиологии. Даже на сегодняшний день интересы фармакогенетики и фармакогеномики по-прежнему сосредоточены в основном на вариациях генома человека, а не на генах огромного количества микроорганизмов в составе микробиома. В связи с этим авторы подчеркивают роль микробиома кишечника в будущем фармакологии и персонализированной медицины.

### 6.1 Влияние микробиома на фармакокинетику и фармакодинамику лекарств

Кишечные микроорганизмы способны воздействовать на лекарственные средства с помощью различных механизмов, которые можно классифицировать как прямые и косвенные (Рис. 10). Прямые механизмы включают биотрансформацию лекарств или их метаболитов в вещества с измененной активностью. Косвенные механизмы включают более сложные взаимодействия микроорганизмов с лекарствами и организмом хозяина, что приводит к изменению метаболических и транспортных путей человека для конкретного препарата.

Для понимания микробиом-ассоциированного метаболизма следует вспомнить, что биодоступность лекарств при приеме внутрь зависит от степени печеночного метаболизма («эффект первичного прохождения») еще до достижения системного кровотока [112]. Однако часто пероральные препараты впервые сталкиваются с микробиотой кишечника еще до взаимодействия с тканями человека, что является еще одним механизмом «эффекта первичного прохождения» (Рис. 11). Фактически к настоящему времени уже имеются научные данные [111],

полученные как *in vitro*, так и *in vivo*, подтверждающие микробный метаболизм более 50 лекарств (Таблица А Приложения). Данное число, вероятно, недооценивается, если учесть обширное генетическое разнообразие микробиома человека и при этом отсутствие на сегодняшний день каких-либо систематических научных работ о микробном метаболизме лекарственных средств в кишечнике [113]. Кроме того, информация о скорости всасывания лекарственных веществ вероятнее всего будет являться косвенным показателем уровня микробного метаболизма, при том что плотность кишечной микробиоты резко возрастает, начиная с дистальных отделов тонкого кишечника в направлении к толстой кишке. Что немаловажно, лекарства и их метаболиты могут также повторно сталкиваться с микробиотой кишечника в процессе билиарной экскреции, в результате которой происходит реабсорбция и энтеропеченочная циркуляция биологически активных веществ.

Несмотря на широкое химическое разнообразие в структуре лекарств, исследователями были выделены всего два метода микробного химического метаболизма: восстановление и гидролиз. Эти две реакции и отражают энергетические запросы микробиоты кишечника. Условия в кишечнике в основном анаэробные, поэтому микроорганизмы не могут полагаться на кислород в качестве акцептора электронов для процесса дыхания [114]. Взамен этого восстановительные процессы метаболизма ксенобиотиков способствуют анаэробному дыханию, расширяя спектр акцепторов электронов, доступных для дыхания. С другой стороны, процессы гидролиза непосредственно обеспечивают субстраты для роста микроорганизмов [115].

Общность этих двух типов химических реакций (восстановление и гидролиз) также может означать, что существуют основные виды бактерий или семейства генов, которые воздействуют на огромный диапазон малых молекул [116]. В таком случае выявление основных бактерий, метаболизирующих лекарства, могло бы служить основой для прогнозирования того, как новые препараты будут модифицироваться кишечной микробиотой. Такие знания смогут произвести революцию в фармакологии новых лекарственных средств и персонализированной медицине, подобно революции, которая последовала за открытием того факта, что ферменты системы цитохром P450 продуцируются в кишечнике и печени, где они метаболизируют множество ксенобиотиков [117,118]. Химические функциональные группы новых лекарственных веществ, в случае их участия в микробном метаболизме, можно было бы устранять еще на этапе проектирования химического синтеза или же использовать для контроля доставки лекарств в нужный участок организма.

Ранее мы уже вспоминали об азо-соединениях и эффекте микробных трансформаций пролекарств на примере ронтозила. Терапевтический эффект ряда пролекарств, содержащих азо-связи, требует биологической активации с помощью микроорганизмов кишечника. После перорального введения препарата азо-связь восстанавливается ферментами бактерий — азоредуктазами, которые высвобо-

ждают биологически активное соединение. Азоредуктазы широко распространены у множества таксономических типов бактерий, обнаруженных в кишечнике человека [119]. Кишечные микроорганизмы также могут инактивировать метаболиты азосоединений, например: биологически активный компонент препарата сульфасалазин, 5-аминосалициловая кислота, инактивируется микробным ферментом ариламин-ЫI-ацетилтрансфераза. Интересно, что активность этих ферментов может варьироваться, отличаясь более чем в 10 раз в организмах разных людей [120], что и приводит к различиям в эффективности лекарственного средства.

Еще одно важное семейство ферментов, влияющих на биологическую активность и токсичность широкого спектра лекарственных средств, это (3-глюкуро-нидазы, которые также ассоциированы с бактериями человеческого микробиома [121]. Опубликованные данные актуальных исследований выявили роль (3-глюкуро-нидаз в определении степени токсичности противовоспалительных и онкологических препаратов. В описанных ситуациях бактерии кишечника вступают во взаимодействие с метаболитами лекарств, полученных в результате биохимического процесса детоксикации ксенобиотиков. Ферменты печени УДФ-глюкуро-нилтрансферазы переносят гликозильные группы по УДФ-молекулам на другие гидрофобные молекулы. При этом образуются относительно индифферентные глюкуро-ниды — хорошо растворимые в воде соединения, которые могут выделяться в кишечник с желчью. Эта биологическая трансформация снижает или приостанавливает биологическую активность лекарственных веществ и увеличивает их растворимость, тем самым позволяя удалять их с мочой или желчью (билиарная экскреция) [122]. Процесс билиарной экскреции предоставляет еще одну возможность для микробного метаболизма лекарственных средств с помощью бактериальных р-глюкуро-нидаз, которые могут повторно активировать лекарства в кишечнике, вызывая повышение его токсичности. Примером этого явления является метаболизм иринотекана, широко используемого пролекарства для лечения колоректального рака [123-125].

Подобный микробный механизм также отвечает за повышение побочных эффектов нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), включая диклофенак, индометацин и кетопрофен [126]. Известно, что до 70% пациентов, постоянно принимающих НПВС, имеют повреждение слизистой оболочки дистального отдела тонкого кишечника, язвы и, в редких случаях, даже перфорации. В печени НПВС подвергаются процессам детоксикации с помощью глюкуро-нилтрансфе-раз человека перед экскрецией с желчью в просвет кишечника. А далее микроб-ные [3-глюкуро-нидазы в кишечнике способствуют повторному метаболизму вещества и абсорбции его в энтероциты, при этом последующие метаболиты НПВС нарушают целостность слизистой оболочки и провоцируют воспалительные процессы в тонком кишечнике [125,127].

Описанные примеры демонстрируют, как микробный метаболизм может усиливать побочные эффекты фармакотерапии. Доказано, что (3-глюкуро-нидазы

широко распространены у многих видов бактерий в составе микробиома кишечника, включая представителей типов Proteobacteria, Firmicutes и Actinobacteria [128-132].

Микробиом человека может также влиять на биологическую доступность лекарств. Классический пример этого явления — сердечный гликозид дигоксин, применяемый в терапии нарушений ритма сердца и сердечной недостаточности. Дозирование дигоксина является весьма сложным врачебным навыком из-за его чрезвычайно узкого терапевтического диапазона, что делает даже незначительные колебания в его концентрации клинически *значимыми* для пациента. Кроме того, известно, что примерно у 10% пациентов определяются высокие уровни неактивного метаболита дигоксина, дигидродигоксина, что является результатом бактериального метаболизма (восстановления) ненасыщенного лактонового кольца препарата [133,134]. В ряде случаев более 50% вводимого препарата инактивируется микробиотой кишечника, что существенно снижает системные концентрации и эффективность [135]. Целая серия исследовательских работ была посвящена выделению микробного вида, ответственного за столь значимое снижение эффективности дигоксина, и в результате было выявлено, что, действительно, отдельные штаммы *Eggerthella lenta* (штамм DSM2243) имеют так называемый CGR-оперон (cardiac glycoside reductase), индуцируемый сердечными гликозидами, что запускает биохимический каскад, ведущий к инаktivации подобных лекарственных средств [116,136-138]. Таким образом, современные исследования на стыке фармакологии и молекулярной биологии являются основой так называемой микробиом-ассоциированной медицины, т.е. улучшения результатов лечения с помощью вмешательств в микробиом человека и прогнозирования эффективности новых лекарственных средств в процессе метаболического и/или генетического скрининга микробиома [111].

Не менее важным направлением сегодня является развитие микробиом-ассоциированной диагностики, т.е. разработки диагностических биомаркеров, которые необходимы для выбора оптимального лекарства и/или режима дозирования для конкретного пациента на основе данных о характеристиках его микробиома. По сути это наиболее важный компонент системы персонализированной медицины. На сегодняшний день уже можно использовать в клинической практике знания о микробных метаболитах, видах бактерий или семействах генов, связанных со многими лекарственными средствами. Далее мы приведем примеры наиболее изученных микробиом-ассоциированных врачебных решений (парацетамол, дигоксин, такролимус).

А. Ранее было установлено, что исходные уровни *p*-крезол сульфата находятся в обратной пропорциональной связи с отношением ацетаминофен (парацетамол) сульфата к ацетаминофен (парацетамол) глюкурониду. Поэтому было высказано предположение, что концентрация *p*-крезол сульфата микробного происхождения может служить биологическим маркером эффективности детоксикации парацетамола, для снижения риска повреждения печени у пациентов группы риска [139].

Б. Измерение метаболической активности между различными штаммами бактерии *EggertheUa lenta* также является основой для микробиомного теста биологической доступности сердечных гликозидов. Таким образом, количественная ПЦР, определяющая соотношение между этими бактериями и CGR-опероном, позволяет прогнозировать низкие или высокие системные концентрации сердечных гликозидов, чтобы назначить наиболее адекватную терапию пациентам [111,138].

В. Широко применяемый в трансплантологии и гематологии препарат такролимус отличается очень узким терапевтическим диапазоном, и значительная часть пациентов во время терапии нуждается в увеличении суточной дозировки. Исследование с участием пациентов после трансплантации почки показало независимую положительную корреляцию между пациентами с повышенным метаболизмом такролимуса (необходимостью в повышении дозы) и увеличением относительной плотности кишечной бактерии *Faecalibacterium prausnitzii* в составе микробиома [140]. Таким образом, обилие этой бактерии в индивидуальном микробиоме пациента может служить полезным биомаркером для увеличения дозы такролимуса.

Наконец, косвенный диагностический подход может заключаться в определении маркеров клинически значимых представителей микробиома (белков, метаболитов или нуклеиновых кислот) в крови или моче, что позволило бы быстро стратифицировать пациентов в соответствии с их микробиом-ассоциированным лекарственным метаболизмом.

## 6.2 Влияние антибиотиков на состав и характеристики микробиома

Результаты крупных исследований выявили весьма специфические изменения, которые происходят со временем в составе микробиома кишечника в ходе и после лечения антибиотиками. Было обнаружено, что отдельные антибиотики, достигшие кишечника, оказывают абсолютно разное влияние на плотность и разнообразие микробиома.

Например, сравнивались эффекты двух антибиотиков, используемых перорально для лечения *C. difficile*-ассоциированной инфекции, — метронидазола и ванкомицина [102]. Было показано, что действие ванкомицина весьма избирательно направлено на грамположительные бактерии, тогда как метронидазол повреждает преимущественно анаэробные бактерии. При этом общая бактериальная плотность микробиоты на фоне терапии метронидазолом не уменьшалась. Однако на фоне терапии ванкомицином отмечалось снижение плотности микробиоты, которая возвращалась к исходному уровню только через 2 недели после прекращения введения препарата. Важно отметить, что именно на фоне терапии ванкомицином, который практически не абсорбируется в кишечнике и поэтому накапливается в зоне нахождения микробиоты в значительных концентрациях, происходила потеря разнообразия микробиома и увеличение количества бактериальных таксонов, которые ранее присутствовали в низкой плотности, т.е. были угнетены как потенциальные патогены [102,105].

Аналогичные долгосрочные нарушения состава и разнообразия микробиома наблюдались при использовании ампициллина и клиндамицина [141,142]. Кроме того, именно в период антибиотик-ассоциированного сниженного разнообразия микробиома в эксперименте у пациентов отмечалась повышенная восприимчивость к колонизации кишечника различными нозокомиальными патогенами [102, 105,141,142]. Итак, к тому времени, когда антибиотик достигает кишечника, производимый им эффект зависит от спектра антибактериальной активности в составе микробиома, а также степени абсорбции в кишечнике. Логично, что чем больше антибиотика абсорбируется, тем меньше становится его пристеночная концентрация в кишечнике. Например, метронидазол, и клиндамицин нацелены на анаэробные бактерии и легко абсорбируются в тонком кишечнике, однако клиндамицин дополнительно повреждает грамположительные бактерии. Поэтому более широкий спектр активности клиндамицина может объяснить и более выраженный эффект клиндамицина в плане снижении микробного разнообразия кишечника. Кроме того, как ванкомицин, так и ампициллин отличается более широким спектром активности и более низкой кишечной абсорбцией в сравнении с метронидазолом [143]. Это может также объяснять, почему два первых антибиотика вызывают более глубокие и долговременные повреждения микробиоты.

Спектр активности антибиотика играет важное значение и может быть фактором инициирования избыточного роста и доминирования патогенных бактерий в кишечнике. Например, лечение метронидазолом приводит к трехкратному увеличению риска развития доминирования энтерококков в кишечнике, тогда как внутривенное введение ванкомицина и бета-лактамовых антибиотиков не увеличивает этот риск [20]. Метронидазол отличается более узким спектром и действует в отношении облигатных анаэробов, поэтому толерантные к кислороду энтерококки остаются интактными. А ванкомицин и бета-лактамовые антибиотики характеризуются более широким спектром антимикробной активности и могут влиять также на антибиотикочувствительные виды энтерококков, тем самым ограничивая их рост в составе микробиома. Таким образом, спектр активности антибиотика и абсорбция в кишечнике одновременно определяют характер и степень влияния препарата на состав микробиоты и восприимчивость человека к колонизации патогенами. Эти важные практические аспекты следует рассматривать при выборе антибиотика и прогнозировании его воздействия на кишечный микробиом.

Одно из исследований на когорте добровольцев показало, что даже при антибиотикотерапии в течение одной недели и менее наблюдалась выраженная потеря разнообразия микробиома, а также повышение активности генов антибиотикостойчивости [144], при этом наблюдаемый эффект сохранялся от шести месяцев до двух лет после окончания терапии. Одним из потенциальных объяснений продолжительности постантибиотического эффекта на микробиом *in vivo* является взаимозависимость различных бактериальных таксонов. Таким образом, вся архитектура микробиома может страдать на фоне избирательного повреждения лишь некоторых бактериальных видов.



Фармакологические свойства отдельных антибиотиков в контексте влияния на микробиом представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Влияние наиболее изученных антибиотиков на кишечный микробиом (адаптировано из Sohn Kim и соавт. [145])

Антибиотик	Ампициллины	Клиндамицины	Метронидазол	Неомицины	Ванкомицины
Классификация	Аминопенициллины	Линкозамиды	Нитроимидазолы	Аминогликозиды	Гликопептиды
Пути введения	Внутримышечный Внутривенный Пероральный	Внутримышечный Внутрипеченочный и Пероральный Топический Вагинальный	Внутривенный Пероральный Топический Вагинальный	Внутривенный Внутримышечный Пероральный Топический	Внутривенный Пероральный Интракалькарный Интрапеченочный Интраперитонеальный Интраокулярный
Спектр активности	(1) Грам+ (2) Грам- (3) Анаэробы	(1) Грам+ (2) Анаэробы	(1) Анаэробы	(1) Грам- (2) Аэробы	(1) Грам+ (2) Аэробы
Кишечная абсорбция при приеме внутрь	Умеренная	Высокая	Высокая	Минимальная	Минимальная
Зона абсорбции	Тонкий кишечник	Тонкий кишечник	Тонкий кишечник		
Механизм клиренса	Почечный <sup>1</sup>	Бил. парный	Почечный <sup>1</sup> , бил. парный	Почечный	Почечный <sup>1</sup> , минимальный, билиарный
Влияние на разнообразие микробиома при приеме внутрь	Долгосрочные нарушения	Долгосрочные нарушения	Краткосрочные нарушения	Долгосрочные нарушения	Долгосрочные нарушения
Влияние на разнообразие микробиома при парентеральном приеме	Долгосрочные нарушения	Долгосрочные нарушения	Нет данных	Минимальные нарушения	Минимальные нарушения

Примечание. Среди путей введения указаны не только методы, которые широко используются в клинической практике; с целью упрощения ряд бактерий исключен из спектра активности антибиотиков; умеренная кишечная абсорбция — 40-60%, высокая — 61-100%; краткосрочные нарушения — до 2 недель, долгосрочные — 2 недели и более.

<sup>1</sup>Основной механизм клиренса

### 6.3 Ассоциация микробиома и эффективности противоопухолевых лекарственных средств

Недавно опубликованные данные экспериментальных исследований показали неожиданные результаты: характеристики кишечного микробиома имеют влияние на химиотерапию онкологических и гематологических заболеваний, а также на терапию моноклональными антителами. К примеру, было выявлено, что антибактериальная терапия нарушает реакцию на цитостатический препарат алкилирующего типа оксалиплатин путем уменьшения активности ФНО-а, ответа CD8+ Т-клеток, а также противоопухолевой активности миелоидных клеток. Более того, авторы выявили конкретные роды бактерий микробиома, которые ассоциировались с положительными (роды *Alistipes* и *Ruminococcus*) или отрицательными (род *Lactobacillus*) изменениями в противоопухолевом ответе [146].

В эксперименте также было показано, что алкилирующий агент циклофосфамид вызывает повреждение и увеличивает проницаемость кишечного барьера,

что способствует транслокации определенных бактерий в мезенхимальные лимфатические узлы и селезенку (в частности, бактерии *L. johnsonii* и *E. hirae*). В этом исследовании интерферон- $\gamma$ , продуцируемый Т-клетками как реакция на эти бактерии, определялся именно у животных, получавших циклофосфамид, но не в контрольной группе. При трансфузии данных специфических Т-клеток (Т-хелперы-17) сохранялась противоопухолевая реакция иммунной системы даже у мышей с нарушениями микробиома (группа, получавшая ванкомицин+циклофосфамид+трансфузия Т-хелперов-17). В случае отсутствия данных Т-хелперов (после введения ванкомицина) лабораторные животные не могли остановить рост опухоли, из чего следует, что бактериально-ассоциированные Т-хелперы, полученные в результате лечения циклофосфамидом, в значительной степени отвечают за противоопухолевый эффект данного препарата [147].

В другом исследовании изучалась эффективность лечения меланомы анти-PD-1/PD-L1 препаратами (пембролизумаб, ниволумаб, атезолизумаб), в частности, в эксперименте изучалось достижение контрольной точки блокады анти-PDL1 в результате трансфера отдельных представителей микробиома, а именно рода *Bifidobacterium*. Согласно результатам опытов, комменсальные бактерии улучшали активность дендритных клеток, повышали экспрессию цитокинов, а также генов, связанных с активацией Т-клеток, таким образом индуцируя более сильный противоопухолевый CD8<sup>+</sup> Т-клеточный ответ [148].

Еще одним инновационным препаратом для лечения метастатической меланомы является ипилимумаб, новый иммуномодулятор, блокирующий рецепторы CTLA4 на лимфоцитах и восстанавливающий противоопухолевый иммунный ответ. Аналогичным образом в эксперименте была резко снижена эффективность блокады рецепторов CTLA4 у стерильных мышей или мышей после антибиотик-ассоциированного повреждения микробиома. Далее в экспериментальных моделях (меланома, саркома, рак толстой кишки) было подтверждено, что терапия блокатором CTLA4-рецепторов индуцировала Т-клеточное повреждение кишечной стенки и изменения в микробиоме, а именно увеличение относительной плотности *B. thetaiotaomicron*, *B. uniformis* и представителей семейства *Burkholderiaceae*. Тем не менее при искусственном заселении кишечника стерильных мышей именно этими бактериями происходила нормализация ответа на терапию блокатором CTLA4-рецепторов с запуском Т-клеточной продукции интерферона- $\gamma$ . Интересно, что при заселении кишечника другими бактериями (*E. coli*, *L. plantarum*, *B. diastonicus*, *E. hirae*) нормализации ответа на противоопухолевую терапию не происходило. Примечательно, что идентичные бактериально-ассоциированные Т-клетки выделяются у пациентов, а мыши в модели меланомы, заселенные биоматериалом стула человека, обогащенного вышеобозначенными защитными видами, в эксперименте показывали частую регрессию опухоли. И наконец, развитие колита, как частого осложнения терапии ипилимумабом, отмечалось значительно реже на фоне заселения кишечника бактероидами, а именно *B. fragilis* и *B. cseracia* [149]. Согласно этим данным, недавно опубликованный анализ когорты пациентов с меланомой, получаю-

ших лечение ипилимуабом, показал, что относительная плотность бактерий типа *Bacteroidetes* была значительно выше у пациентов, у которых не развилось осложнение терапии в виде колита [150]. Более того, у пациентов без осложнений терапии отмечались интенсификация транспорта полиаминов и биосинтеза витаминов группы В, что успешно использовалось исследователями в качестве высокочувствительных и специфичных молекулярных маркеров для прогнозирования риска развития у пациентов колита.

В целом результаты обозначенных исследовательских работ показывают, что микробиом человека влияет на эффективность противоопухолевых средств, а также на риск развития побочных реакций. Однако по-прежнему остается важным и невыясненным вопросом, влияет ли на результат противоопухолевой терапии использование антибиотиков у онкологических/гематологических пациентов.

## 7. Микробиом у пациентов с иммуносупрессией

### 7.1 Категории пациентов с глубокой иммуносупрессией

Дифференцированный микробиом и его роль в защите от инфекционных заболеваний особенно важны для пациентов с ослабленным иммунитетом. Популяция пациентов с иммуносупрессией подвергается повышенному риску генерализации, т.е. транслокации отдельных бактерий из желудочно-кишечного тракта в кровь с потенциальным формированием бактериальных отсевов [151].

Для понимания уровней иммуносупрессии при различных заболеваниях и состояниях принята к использованию классификация Американского общества инфекционных заболеваний [152]. В частности, к пациентам с наиболее глубокими приобретенными иммунодефицитами относятся:

- пациенты с гематологическими или онкологическими заболеваниями, получающие химиотерапию;
- пациенты в течение 2 месяцев после трансплантации солидного органа;
- пациенты с ВИЧ-инфекцией и числом CD4-Клеток менее 200 в 1 мм<sup>3</sup> для взрослых и подростков;
- пациенты, получающие ежедневную терапию глюкокортикостероидами с дозой >20 мг (или >2 мг/кг/сутки для пациентов с весом менее 10 кг) по преднизолону или эквивалентные дозы глюкокортикостероидов в течение >14 дней;
- пациенты, получающие биологические иммуномодуляторы, а именно блокатор фактора некроза опухоли-альфа или ритуксимаб.

Стоит отдельно отметить, что среди всей когорты пациентов с иммуносупрессией наибольшая глубина и длительность поражения иммунной системы, а также восприимчивость к инфекционным агентам отмечается у пациентов на фоне химиотерапии опухолевых заболеваний кроветворной ткани (например, индукция ремиссии острых лейкозов), а также на фоне режимов кондиционирования (химиотерапии) при выполнении трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), как периферических, так и костного мозга.

Современные показания к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) включают следующие заболевания: острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, МДС, неходжкинские лимфомы, лимфома Ходжкина, миеломная болезнь [153].

В зависимости от источника получения клеток ТГСК подразделяют на:

- аллогенную: донором клеток является здоровый человек, отличный от реципиента (родственный или неродственный донор); определяющим фактором успешности выполнения алло-ТГСК служит подбор совместимого с реципиентом по  $HLA$ -системе донора ГСК;
- аутологичную: источником клеток для трансплантации является костный мозг, периферическая или пуповинная кровь самого реципиента.

Забор гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) может осуществляться из костного мозга, пуповинной или периферической крови. При заборе ГСК из костного мозга при ауто-ТГСК для его очистки от опухолевых клеток применяются химиотерапевтические, фотохимические, иммунологические методы и методы позитивной селекции. В последние годы чаще используют ГСК из периферической крови донора (ПГСК). ПГСК получают методом лейкафереза с помощью клеточных фракционаторов после их мобилизации у пациентов. Мобилизация ПГСК может выполняться с помощью различных режимов химиотерапевтических препаратов или колониестимулирующих факторов роста. Важным источником ГСК является пуповинная кровь, которая имеет ряд преимуществ: высокое содержание и пролиферативная активность ГСК и сниженная экспрессия  $HLA$ -антигенов в сравнении с клетками крови взрослого человека [154].

Перед проведением процедуры ТГСК пациенту назначают режим кондиционирования. Это цитостатическая и лучевая терапия для эрадикации кроветворения реципиента и достижения максимальной иммуносупрессии, позволяющей добиться приживления вводимых ГСК. В настоящее время имеется ряд режимов кондиционирования различной степени интенсивности. Большинство исследователей делят все режимы на 2 группы: миелоаблативные и немиелоаблативные. Основой такого разделения служит глубина иммуносупрессии и продолжительность цитопении. Считается, что при использовании миелоаблативных режимов практически у всех пациентов наступает необратимая панцитопения, естественное восстановление функции костного мозга маловероятно, что требует проведения ТГСК. Помимо уничтожения (абляции) костного мозга реципиента при миелоаблативных режимах достигается иммуносупрессивный эффект, который снижает вероятность отторжения донорских клеток. Немиелоаблативные режимы предполагают применение меньших доз химиотерапии и/или облучения, которых недостаточно для уничтожения костного мозга пациента. При их использовании снижается продолжительность панцитопении и глубина иммуносупрессии, а также может наблюдаться положительная реакция «трансплантат против опухоли», что снижает риск рецидива опухоли. При применении немиелоаблативных режимов у пациента в ранние сроки после ТГСК может отмечаться

состояние «смешанного химеризма», когда в костном мозге одновременно существуют как собственные клетки, так и клетки донора. Впоследствии при снижении доз иммуносупрессивных препаратов Т-клетки донора уничтожают остатки клеток костного мозга реципиента и индуцируют реакцию «трансплантат против опухоли». Имеются данные о меньшей посттрансплантационной летальности при применении немиелоаблативных режимов у отдельных категорий пациентов, постепенно расширяются показания к проведению данного вида кондиционирования, особенно у пациентов из групп высокого риска. Отдельные авторы выделяют также режимы кондиционирования сниженной интенсивности, которые занимают промежуточное место между миелоаблативными и немиелоаблативными, вызывая панцитопению различной продолжительности с необходимостью проведения ТГСК, однако такая панцитопения все же может быть обратима [155].

Угнетение иммунной системы организма при химиотерапии онкогематологических заболеваний и кондиционировании при ТГСК приводит к нарушениям в целом комплексе системы защиты от инфекций. Среди них отметим нарушение функции фагоцитов, поражение кожных и слизистых барьеров, недостаток функции клеточного и гуморального звена иммунного ответа.

Повреждение слизистой оболочки внутренних органов при химиотерапии является наиболее ранним механизмом развития инфекционных осложнений. Цитотоксическая терапия оказывает прямое влияние на клетки с высоким митотическим индексом (эпителий полости рта и желудочно-кишечного тракта), что выражается клиническими проявлениями мукозита. Мукозит полости рта проявляется функциональными жалобами (боль при глотании) и морфологическими изменениями (отек, эритема, образование язв), мукозит желудочно-кишечного тракта сопровождается тошнотой, рвотой, диареей, болью в животе. При этом и происходит транслокация представителей микробиома желудочно-кишечного тракта в кровеносное русло. Режимы химиотерапии, содержащие мелфалан, этопозид, метотрексат, цитарабин и идарубицин, наиболее часто вызывают мукозит, который значительно осложняется при сочетании антрациклинов с тотальным облучением тела и циклофосфамидом в составе режима кондиционирования при ТГСК [156,157]. Также одним из важных последствий мукозита является нарушение всасывания пероральных форм лекарственных средств. Так, E.J. Johnson с соавт. установили, что происходит снижение всасывания ципрофлоксацина у пациентов при мукозите и фебрильной нейтропении на фоне химиотерапии [158].

Интересно, что впервые связь между снижением уровня нейтрофилов в периферической крови и частотой развития инфекций в 1966 г. доказал доктор Gerald P. Vodey из Хьюстона, (США) [159]. При этом инфекции кровотока считаются основной клинической формой бактериальных инфекционных осложнений у взрослых пациентов при ТГСК [160,161].

С хронологической точки зрения выделяется 3 стадии вероятного развития инфекционных осложнений у пациентов после ТГСК (Рис 10). Эта модель основана на этапности восстановления иммунной системы после химиотерапии.

В течение I стадии (от 1-х до 30-45-х суток после ТГСК) длительная нейтропения и повреждение естественных барьеров слизистых оболочек химиотерапевтическими препаратами приводят к высокому риску развития бактериальных, грибковых инфекций, реактивации вируса простого герпеса 1 и 2 типов. II стадия (30-100-е сутки после ТГСК) характеризуется преимущественным поражением клеточного иммунитета и может сопровождаться вирусными инфекциями, в основном из семейства *Herpesviridae*. Во время III стадии (более 100 суток после ТГСК) пациенты с сохраняющейся хронической РТПХ и реципиенты аллогенного трансплантата продолжают находиться в группе риска по развитию цитомегаловирусной (CMV) инфекции, вируса варицелла-зостер (VZV), инфекций, вызванных *S. pneumoniae*. Стоит подчеркнуть, что риск рецидивирования вирусных инфекций, вызываемых вирусами простого герпеса (HSV), CMV, VZV, вирус Эпштейна - Барр (VEB), существенно зависит от серологического статуса пациента и/или донора ГСК. Схематично хронология развития инфекционных осложнений при ТГСК представлена на Рис. 11.

Клиницистам важно понимать, что инфекционная этиология лихорадки у пациентов с нейтропенией подтверждается микробиологически только в 30-50% случаев. Причинами данного явления являются резко сниженный иммунный ответ (особенно отсутствие воспалительной реакции гранулоцитов), небольшое количество возбудителей в исследуемом биологическом материале, а также периодическая транслокация патогенов в кровь через поврежденные химиотерапией слизистые оболочки. По причине особого характера течения осложнений, сниженной иммунологической реактивности, а также невысокого уровня выделения возбудителя инфекций у иммунокомпрометированных пациентов на фоне химиотерапии в клинической практике был описан термин «фебрильная нейтропения» [101,163]. Фебрильная нейтропения — однократно измеренная температура выше 38,3°C или температура выше 38,0°C на протяжении не менее 1 часа у пациента с АЧН <500 кл/мкл или у пациента с высокой вероятностью падения АЧН ниже 500 кл/мкл в течение следующих 48 часов. Выбор антибиотика при фебрильной нейтропении проводится эмпирически и является решающим фактором успеха терапии [101,164,165]. Эмпирическая антибактериальная терапия — это назначение антибактериальных препаратов до получения сведений о возбудителе и его чувствительности к данным препаратам. Поскольку антибактериальная терапия пациентов при ТГСК назначается в основном эмпирически, крайне важной с клинической точки зрения является возможность использования биологических маркеров сепсиса для уточнения диагноза инфекции кровотока у пациентов с фебрильной нейтропенией без микробиологического подтверждения [166,167].

Важно отметить, что именно когорта иммунокомпрометированных пациентов онкологического и гематологического профилей, а также реципиенты ГСК являются наиболее изученными в контексте микробиома. Именно на модели иммуносупрессии при ТГСК получены многие основополагающие данные о микробиоме человека и его клиническом значении, что представлено далее. В частности, одна из знаковых работ Y. Тауг и соавт. на эту тему показывает достоверное снижение

индекса биологического разнообразия микробиома (индекс Шеннона) у пациентов в динамике при проведении ТГСК (день 0 на графике), при этом четко отмечено негативное влияние антибиотиков и химиопрепаратов на многообразие микробиома (Рис. 13) [20].

Более того, той же исследовательской группой на большой когорте трансплантационных пациентов была показана связь уровня разнообразия микробиома и риска трансплант-ассоциированной летальности в течение нескольких лет после аллогенной ТГСК, работа была опубликована в знаменитом журнале Blood. Для исключения других потенциальных факторов, влияющих на исход трансплантации, в модель мультивариантного анализа общей и трансплант-ассоциированной летальности были включены дополнительные переменные. А именно: возраст, пол, основной диагноз, индекс коморбидности ТГСК, статус основного заболевания, интенсивность режима кондиционирования, источник трансплантата, деплеция Т-клеток, срок в днях до приживления трансплантата, лечение препаратами урсодезоксихолевой кислоты, степень нарушения функции печени/почек, введение парентерального питания, время-зависимое использование антибиотиков (ванкомицин, фторхинолоны, метронидазол, бета-лактамы). В результате авторы доказали, что у пациентов с исходно более низким уровнем разнообразия кишечного микробиома достоверно выше риск трансплант-ассоциированного летального исхода (Рис. 14) [168]. Это означает, что разнообразие микробиома кишечника является независимым предиктором летального исхода при аллогенной ТГСК.

Один из наиболее применяемых подходов для предотвращения бактериальных инфекций у пациентов на фоне химиотерапии - профилактическое введение антибиотиков. Однако при этом антибиотики могут оказывать селективное давление на микробиоту, приводя к отбору устойчивых к антибиотикам бактерий. Два наиболее частых вида микробиом-ассоциированных инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов — это *C. difficile*-ассоциированная инфекция и системные инфекции (сепсис), вызванные возбудителями, колонизирующими кишечник [169,170]. Далее мы рассмотрим патогенез инфекций, возникающих как результат колонизации и доминирования микробиома желудочно-кишечного тракта.

## 7.2 Генерализованные инфекции, происходящие из кишечника

Инфекции кровотока и сепсис, которые часто встречаются у пациентов с ослабленным иммунитетом, в значительном количестве случаев являются результатом нарушений кишечного микробиома и повреждения слизистой оболочки кишечника в условиях иммуносупрессии. Эти явления происходят по причине сочетания химиотерапии, лучевой терапии и широкого применения антибиотиков, что в итоге приводит к транслокации и генерализации некоторых кишечных бактерий. Наиболее распространенными бактериями, способными к кишечной транслокации, являются кислородоустойчивые микроорганизмы,

в том числе ванкомицин-резистентные энтерококки, представители семейства Enterobacteriaceae, такие как *E. coli* и *Klebsiella spp.*, а также стрептококки группы viridans [166,169,171-174].

Цитотоксическая химиотерапия остается одним из наиболее распространенных методов лечения различных видов рака. К этой терапевтической группе относится множество лекарств, которые нарушают процесс клеточного размножения - митоза, тем самым влияя преимущественно на быстро делящиеся клетки, к которым и относятся раковые клетки. Однако раковые клетки — не единственная группа быстро делящихся клеток в организме человека. Клетки тканей желудочно-кишечного тракта и гемопоэтические стволовые клетки костного мозга также являются двумя важными клеточными популяциями, которые быстро делятся в здоровом организме. Следовательно, и эти клетки становятся восприимчивыми к антимиотическим коллатеральным эффектам химиотерапии [175,176].

Специализированные стволовые клетки желудочно-кишечного тракта обычно восполняют потерю эпителиальных клеток слизистой оболочки для поддержания целостности барьера. Однако цитотоксическая химиотерапия, помимо повреждения эпителиальных клеток выстилки кишечника, инициирует микробиом-ассоциированную реакцию восстановления посредством активации фактора транскрипции (ядерный фактор NF-κB), причем не только в эпителиальных клетках, но и во всех окружающих клетках и тканях. Далее подключается продукция провоспалительных цитокинов, формируя патофизиологическую цепь с положительной обратной связью для усиления воспалительной реакции на первичном участке повреждения. Комбинация воспалительной реакции и апоптоза клеток слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта приводит к развитию болезненных ощущений у пациента, нарушению всасывания веществ и повреждению слизистого барьера. В комплексе эти процессы и являются мукозитом, весьма распространенным осложнением химиотерапии [177].

Как мы уже отмечали, химиотерапия одновременно поражает гемопоэтические стволовые клетки в костном мозге. Эти клетки являются исходным материалом всех типов клеток крови с наибольшим вкладом нейтрофилов. Нейтрофилы - самые распространенные, но при этом недолговечные белые кровяные клетки, которые действуют как непосредственная первичная защита от инфекционных агентов [176]. Одними из ранних предшественников нейтрофилов являются промиелоциты, которые отличаются высокой активностью синтеза ДНК и, соответственно, очень уязвимы к антимиотическим эффектам химиотерапии. Их потомство составляют миелоциты, которые являются наиболее многочисленными пролиферирующими предшественниками нейтрофилов и, следовательно, являются крупнейшей популяцией клеток, повреждаемых химиотерапией. Все последующие клетки после миелоцитов не делятся.

Таким образом, потеря именно миелоцитов костного мозга оказывает наибольшее влияние на нейтропению в периферической крови, а скорость восстановления клеток этой популяции в значительной степени определяет продолжительность



нейтропении. Пациентам с глубокой и/или длительной химиотерапевтически-ассоциированной нейтропенией обычно назначаются профилактические антибиотики для предотвращения потенциально фатальных системных инфекций. Эти факторы вместе формируют цикл патогенеза инфекций, происходящих из кишечника (Рис. 15).

Во-первых, нейтропения снижает способность пациента ограничивать локальный бактериальный процесс. Во-вторых, введение антибиотиков, как и химиотерапия, способствует нарушению состава микробиома кишечника и отбору антибиотикорезистентных колонизирующих бактерий. В-третьих, синдром мукозита создает «окно», т.е. портал для проникновения кишечных бактерий в системный кровоток, в связи с повреждением комплексного барьера ЖКТ. При соблюдении этих условий колонизирующий микроорганизм проникает в кровоток и приводит к системной инфекции. При этом резервуар микроорганизма продолжает находиться в кишечнике, и позволяет ему постоянно выходить в кровоток на фоне сниженных защитных механизмов пациента.

### **7.3 Научное подтверждение влияния кишечного доминирования на риск развития инфекций кровотока**

Итак, озвучив механизмы патогенеза инфекций у пациентов на фоне химиотерапии, перейдем к понятию кишечного доминирования. По данным наиболее объемных опубликованных работ, бактериальные инфекции кровотока имеют высокую распространенность при аллогенной трансплантации ГСК, в пределах 20-34%, с существенными различиями между отдельными центрами и режимами кондиционирования [178,179]. Более того, на протяжении последнего десятилетия грамотрицательные инфекции преобладают в этой сложной области медицины, составляя до 65% в общем спектре инфекций кровотока в Европе и США [180-182]. Высокие цифры летальности при этом поражают: например, при развитии инфекции, вызванной карбапенем-резистентной *K. pneumoniae*, уровень соответствующей летальности составил более 60% [183]. Данная актуальная проблема и послужила основой для выполнения объемного проспективного исследования по изучению микробиом-ассоциированных факторов развития инфекций кровотока и, в частности, оценки влияния факторов кишечного доминирования. Результаты этого междисциплинарного научного исследования, в котором также принимал участие автор монографии, представлены ниже.

В протокол сбора и низкотемпературного замораживания образцов стула были включены взрослые пациенты, госпитализированные для выполнения аллогенной ТГСК за период с 2012 по 2018 гг. на базе Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга (п Нью-Йорк, США). Процедура сбора, обработки и подготовки биологического материала описана отдельно ранее [184]. Среди прочих критериев включения в данное когортное исследование было обозначено наличие >3 последовательных высококачественных секвенированных биологических образцов у одного пациента. Обширные клинические и микробиологические

данные собирались у каждого из пациентов программными методами. Критериями первичного исхода в анализе (инфекция кровотока) были приняты определения Центра контроля и профилактики заболеваний (Center for Disease Control and Prevention) [185]. MALDI-TOF масс-спектрометрия применялась рутинно для экспресс-идентификации патогенов. Среди клинических параметров в мультивариантном анализе были использованы: возраст, пол пациентов, основное заболевание, режим кондиционирования, источник гемопоэтических стволовых клеток, время, продолжительность и выбор антибиотиков, характеристики микробиома на различных этапах лечения. Протокол исследования был одобрен Этическим Советом Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга, исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией, а также критериями STROBE для когортных исследований.

После экстракции и очищения ДНК в каждом из биологических образцов выполнялась ПЦР-амплификация V4-V5 региона гена 16s рРНК с помощью модифицированных универсальных бактериальных праймеров. Очищенные ПЦР-продукты секвенировались с помощью платформы MiSeq Illumina. Филогенетическая классификация до видового уровня выполнялась на основании Байесовской модели, а также базы данных Greengenes — проверенной на химеризм базы генов 16s рРНК. Сиквенс-последовательности группировались в операционные таксономические единицы (ОТЕ) на основании 97% идентичности. Общее количество генов 16s рРНК в расчете на грамм биологического материала, т.е. мера бактериальной плотности, рассчитывалась с помощью количественного ПЦР, исходя из общего количества ДНК, выделенного из каждого образца [184]. Обработка и анализ обширного массива (big data) клинических, микробиологических и филогенетических данных выполнялись с помощью программного кода. Код был создан авторами применительно к данному исследованию на языке программирования R, являющемся свободной программной средой вычислений с открытым исходным кодом в рамках проекта GNU, а также с периодическим применением высокоуровневого языка программирования общего назначения Python. Линейный дискриминантный анализ размера эффекта (LEfSe) применялся для выявления филогенетических предикторов. Время-зависимая регрессионная модель отношения рисков Кокса применялась для выявления рисков инфекций кровотока и нарушений микробиома. Регрессионная модель корректировалась с помощью пенализированной вероятности Firth. Вероятность развития инфекций в группах в течение времени наблюдения оценивалась методом Каплан-Мейера с лог-ранк тестом. В клиническую стадию мультивариантного анализа включались параметры со значением  $p < 0,2$  в предшествующем моновариантном анализе. Обработка массивов данных, анализ и построение графиков выполнялись в свободной программной среде вычислений R версии 3.4.0 (R Development Core Team, Vienna, Austria) и на высокоуровневом языке программирования Python (Python Software Foundation).

Доминирование кишечного микробиома было определено как относительная распространенность одного бактериального таксона более 30% [184].

Итого 765 пациентов были включены в исследование согласно описанным выше критериям. В данной группе пациентов было выполнено 785 процедур аллогенной ТГСК и собрано 5988 биологических образцов стула со средним количеством 34845 высококачественных бактериальных сиквенса-последовательностей 16s рРНК на каждый образец. Каждый из включенных в исследование пациентов получал с лечебной или профилактической целью антибактериальные лекарственные средства, что учитывалось в анализе.

По результатам линейного дискриминантного анализа размера эффекта было выявлено, что наличие в кишечнике более 30% представителей типа Proteobacteria к 5-му дню после ТГСК имеет прямую ассоциацию с развитием грамтрицательных инфекций кровотока ( $p < 0,001$ ). Посредством регрессионного анализа было подтверждено, что предикторный эффект доминирования Proteobacteria реализуется в основном за счет видов E. coli и Klebsiella spp., при этом его статистическая значимость сохраняется на всех таксономических уровнях (Таблица 3).

Таблица 3. Результаты регрессионного анализа влияния кишечного доминирования грамтрицательных возбудителей на риск последующего развития инфекции кровотока (на таксономических уровнях: тип, класс, семейство, вид)

Исход	Время-зависимый фактор доминирования	ОР (95% ДИ)	p
E. coli инфекция	Тип Proteobacteria	9,95 (4,64-20,41)	<0,001
E. coli инфекция	Класс Gammaproteobacteria	9,33 (4,25-19,29)	<0,001
E. coli инфекция	Семейство Enterobacteriaceae	8,82 (3,91-18,45)	<0,001
E. coli инфекция	Вид E. coli	13,46 (5,96-28,19)	<0,001
Klebsiella spp. инфекция	Тип Proteobacteria	10,94 (2,51-41,59)	0,003
Klebsiella spp. инфекция	Класс Gammaproteobacteria	12,06 (2,77-45,77)	0,002
Klebsiella spp. инфекция	Семейство Enterobacteriaceae	13,15(3,03-49,82)	0,002
Klebsiella spp. инфекция	Виды Klebsiella spp.	19,82 (2,08-91,11)	0,016
P. aeruginosa инфекция	Тип Proteobacteria	1,46 (0,01-13,98)	0,811
P. aeruginosa инфекция	Класс Gammaproteobacteria	1,62 (0,01-15,48)	0,763
P. aeruginosa инфекция	Вид P. aeruginosa	40,30 (0,30-381,59)	0,102
S. maltophilia инфекция	Тип Proteobacteria	3,51 (0,02-65,78)	0,494
S. maltophilia инфекция	Класс Gammaproteobacteria	3,92 (0,03-73,54)	0,461
S. maltophilia инфекция	Вид S. maltophilia	138,00 (0,95-2586,84)	0,052
Грам(-) инфекция	Вид E. coli	8,73 (4,16-16,78)	<0,001
Грам(-) инфекция	Виды Klebsiella spp.	5,00(1,03-14,72)	0,047
Грам(-) инфекция	Тип Proteobacteria	7,85 (4,09-14,35)	<0,001
Грам(-) инфекция	Класс Gammaproteobacteria	7,69 (3,94-14,18)	<0,001
Грам(-) инфекция	Семейство Enterobacteriaceae	7,49 (3,77-13,97)	<0,001

Важно подчеркнуть, данная модель валидирована дополнительно тем, что кишечное доминирование строго специфично предшествует инфекции кровотока, вызванной тем же самым микроорганизмом. Случайный эффект других грамотрицательных инфекций исключен, т.к. во всех случаях развития других инфекций показатель риска пересекает уровень единицы, а значение  $p$  составляет более 0,05 (Таблица 4).

Таблица 4. Кишечное доминирование конкретного микроорганизма не повышает риск развития инфекций кровотока другой этиологии по результатам регрессионной модели

Исход	Время-зависимый фактор доминирования	ОР (95% ДИ)	$p$
<i>E. coli</i> инфекция	<i>S. maltophilia</i>	6,59 (0,05-47,64)	0,310
<i>E. coli</i> инфекция	<i>P. aeruginosa</i>	5,61 (0,04-39,81)	0,344
<i>Klebsiella</i> spp. инфекция	<i>S. maltophilia</i>	34,01 (0,26-293,95)	0,113
<i>Klebsiella</i> spp. инфекция	<i>P. aeruginosa</i>	42,19 (0,33-342,67)	0,098
<i>P. aeruginosa</i> инфекция	<i>E. coli</i>	2,59 (0,02-24,81)	0,574
<i>P. aeruginosa</i> инфекция	<i>Klebsiella</i> spp.	7,95 (0,06-75,88)	0,282
<i>S. maltophilia</i> инфекция	<i>E. coli</i>	6,25 (0,04-117,23)	0,345
<i>S. maltophilia</i> инфекция	<i>Klebsiella</i> spp.	19,43 (0,13-364,19)	0,170

На Рис. 16 представлены данные математического анализа сиквенс-последовательностей каждого из образцов стула у пациентов с грамотрицательными инфекциями кровотока. При этом ось абсцисс представляет собой временной отрезок наблюдения (от дня -10 до дня +15, где день 0 - это день трансплантации), на оси ординат представлена относительная плотность (от 0 до 1) грамотрицательных бактерий в биологическом образце, а каждый кружок на графике соответствует одному образцу. Линия аппроксимации демонстрирует тенденцию динамики относительной плотности грамотрицательных бактерий в образцах.

При внимательном изучении графика становится очевидно, что относительная плотность грамотрицательных бактерий в кишечнике начинает нарастать в районе дня -3 до трансплантации (как правило, в это время пациент уже введен в режим кондиционирования и начал получать антибиотикопрофилактику) и сохраняет высокие показатели вплоть до дня +10 после трансплантации. Именно в этот период и возникает основное количество грамотрицательных инфекций кровотока.

Примечательно, что если в качестве дня отсечки на оси абсцисс (день 0), взять первый день микробиологически подтвержденного эпизода грамотрицательной инфекции кровотока, то станет очевидно, что увеличение относительной плотности грамотрицательных бактерий в кишечнике именно предшествует развитию данного типа инфекций в крови (Рис. 17). На графике линия аппроксимации наглядно демонстрирует, как нарастание кишечного доминирования в итоге приводит к развитию грамотрицательных инфекций у пациентов в крови.

Итак, с помощью математических и графических методов мы подтвердили, что кишечное доминирование представителей типа *Proteobacteria* является время-зависимым предиктором возникновения последующей инфекции кровотока, при этом данный процесс является видоспецифичным, а его влияние прослеживается на всех таксономических уровнях кишечного микробиома.

Ранние исследования в области микробиома человека продемонстрировали, что разнообразный высококодифференцированный состав кишечной микробиоты обладает защитной функцией против ряда инфекций, а также способностью предотвращать колонизацию кишечника высокоустойчивыми патогенами и возбудителями кишечных инфекций [186,187]. Интересно отметить, что воспалительные процессы были обозначены в исследованиях как факторы, ведущие к доминированию класса *Gamma*proteobacteria в кишечнике посредством создания селективного преимущества в проведении окислительного фосфорилирования для денитрифицирующих факультативных анаэробных микроорганизмов [188,189]. И если механизмы защиты от кишечного доминирования представителей типа *Proteobacteria* в организме человека еще предстоит детально изучить, то в экспериментальных исследованиях на лабораторных животных уже доказано, что важнейшим защитным барьером являются ингибиторные короткоцепочечные жирные кислоты (ацетат, пропионат и бутират).

#### **7.4 Антибактериальная профилактика у пациентов на фоне химиотерапии**

Во всем мире до настоящего времени ведется дискуссия о клинической и микробиологической эффективности антибактериальной профилактики фторхинолонами у пациентов на фоне химиотерапии гематологических и онкологических заболеваний, а также трансплантации органов и тканей, при этом часть центров выполняют ее рутинно, а часть отказались от данной меры профилактики осложнений. К тому же вопрос о значении фторхинолонов в профилактике инфекционных осложнений сегодня требует пересмотра с учетом внедряемых новых методов изучения микробиома человека.

Проблема эффективности и безопасности рутинной антибиотикопрофилактики фторхинолонами у пациентов в гематологии и при ТГСК остается открытой по причине повсеместного увеличения показателей устойчивости бактерий к фторхинолонам. Работы, демонстрирующие влияние уровня устойчивости к фторхинолонам на эффективность антибактериальной профилактики в гематологии, указали на необходимость регулярного проведения микробиологического мониторинга с целью пересмотра тактики профилактики эндогенных инфекций [190]. Хотя в настоящее время большинство европейских и американских центров гематологии и трансплантации отмечают у себя уровень устойчивости бактерий к фторхинолонам выше 20%, решение о рутинном применении их в качестве профилактики по-прежнему остается предметом обсуждения в каждом центре. Основным ограничением обоснованного клинического решения для врачей

является отсутствие фактических данных о влиянии профилактики на показатели общей летальности в условиях клинического центра, в то время как защитная функция фторхинолонов против развития инфекций кровотока и сепсиса достоверно подтверждена во многих опубликованных исследованиях. Имеются данные о том, что отмена рутинной антибактериальной профилактики фторхинолонами в гематологическом центре приводила к увеличению частоты грамотрицательного сепсиса у пациентов после аллогенной ТГСК, а также смещению этиологического спектра инфекций [191]. Один из последних метаанализов, выполненный Mikulska и соавт. от имени Европейской конференции по инфекциям при лейкозах (ЕСИЛ), включал результаты двух рандомизированных контролируемых исследований и двенадцати наблюдательных исследований по проблеме антибактериальной профилактики фторхинолонами у пациентов с опухолями кроветворной системы и нейтропенией. Несмотря на то, что среди включенных исследований было всего два опыта с акцентом на аллогенную ТГСК, результаты метаанализа достоверно показали, что профилактика фторхинолонами ассоциирована с более низкой частотой инфекций кровотока, сепсиса и эпизодов фебрильной нейтропении. Важно также то, что согласно результатам метаанализа, в центре отсутствовало влияние исходного уровня устойчивости бактерий к фторхинолонам (т.н. фон антибиотикорезистентности) на клиническую эффективность антибактериальной профилактики [186].

Системная антибактериальная терапия и химиотерапия являются известными факторами, влияющими на структуру кишечного микробиома у пациентов с иммуносупрессией. Как правило, на фоне данных факторов происходит избыточное размножение угнетенных в норме микроорганизмов, а именно: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, которые и являются наиболее значимыми бактериями в структуре этиологии сепсиса. Выявленное защитное действие фторхинолонов против развития грамотрицательного сепсиса в гематологии вносит значимый вклад в дискуссию о клинической эффективности антибактериальной профилактики у пациентов с химиотерапевтически-ассоциированной нейтропенией. Ранее Viscaneve и соавт. показали, что в условиях, когда уровень резистентности к фторхинолонам равнялся 20%, профилактика была клинически эффективна, что и послужило основой для локальных протоколов многих центров [190]. В дополнение Chong и соавт. продемонстрировали, что отмена антибактериальной профилактики фторхинолонами в их центре привела к увеличению частоты грамотрицательных инфекций, в том числе инфекций, вызванных продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра [191].

Совместно с сотрудниками Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга (Нью-Йорк, США) автором был выполнен анализ клинических факторов, ведущих к доминированию грамотрицательных бактерий в кишечнике. По причине наибольшего вклада в структуру инфекций в анализ в качестве исходного был включен именно тип *Proteobacteria*. В состав *Proteobacteria* входят, кроме прочих, значимые нозокомиальные патогены, такие как *E. coli*, *K. pneumoniae*,

*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, что и послужило причиной более пристального изучения именно данного сообщества микроорганизмов кишечника человека. Доминирование кишечного микробиома было определено как относительная распространенность одного бактериального таксона более 30% [20]. Предикторы кишечного доминирования *Proteobacteria* по результатам регрессионного анализа представлены в Таблице 5.

Таблица 5. Предикторы клинически значимого кишечного доминирования типа *Proteobacteria*

Предиктор	Доминирование типа <i>Proteobacteria</i>			
	Моновариантный анализ		Мультивариантный анализ	
	Отношение рисков (95% ДИ)	P	Отношение рисков (95% ДИ)	P
<b>Возраст</b>	1,01 (0,99-1,04)	0,413		
<b>Пол (мужской)</b>	1,47 (0,81-2,81)	0,212		
<b>Лейкоз</b>	0,96 (0,54-1,71)	0,898		
<b>Режим кондиционирования</b>				
* Немиелоаблативный	0,41 (0,04-1,60)	0,228	0,34 (0,04-1,38)	0,148
• Сниженной интенсивности	1,49 (0,81-2,80)	0,196	1,34 (0,68-2,63)	0,397
<b>Пуловинный источник ГСК</b>	1,91 (0,98-3,54)	0,058	1,60 (0,73-3,35)	0,235
<b>Антибиотики (ВЗ)*</b>				
* (З-лактамы	1,19 (0,65-2,28)	0,580		
• Фторхинолоны	0,60 (0,33-1,14)	0,116	0,50 (0,26-0,97)	0,041
• Метронидазол	0,97 (0,35-2,18)	0,952		
• Ванкомицин в/в	3,84 (п/о-484,68)	0,229		
• Линезолид	1,15 (0,24-3,41)	0,837		

\*Время-зависимые параметры в регрессионной модели

Таким образом показано, что риск развития клинически опасного доминирования *Proteobacteria* достоверно снижается на фоне приема антибактериальных лекарственных средств из группы фторхинолонов, что и является основой медикаментозной профилактики инфекций в современной гематологии и трансплантологии. При этом важно подчеркнуть, что ассоциация кишечного доминирования *Proteobacteria* и риска развития сепсиса у пациентов на фоне химиотерапии была подтверждена в предыдущей главе монографии.

### 7.5 Медикаментозная селективная оральная деконтаминация

Высокоустойчивые грамотрицательные микроорганизмы являются угрозой для современного здравоохранения, внося наиболее значительный вклад в структуру заболеваемости и летальности у иммунокомпрометированных пациентов. Ранее было показано, что колонизация кишечника продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра (Б71РС) или карбапенем-резистентными энтеробактериями и грамотрицательными неферментирующими бактериями может иметь длительный характер у отдельных категорий пациентов [192,193]. Данное состояние особенно опасно у пациентов с опухолевыми заболеваниями кроветворной ткани на фоне химиотерапии гематологических заболеваний. У данной категории пациентов ассоциация колонизации слизистых оболочек высокоустойчивыми патогенами с риском инфекционных осложнений и неблагоприятного исхода была продемонстрирована в ряде работ [180,194-197].

Одним из методов, предложенных для снижения потенциальной опасности колонизирующих бактерий, является селективная кишечная деконтаминация. Селективная деконтаминация — избирательная элиминация из желудочно-кишечного тракта человека потенциально опасных бактерий или грибов антимикробными препаратами с целью снижения риска развития инфекции у особых категорий пациентов с иммуносупрессией. Наиболее ранние публикации в PubMed, оценивающие эффективность деконтаминации, датируются 1970-1980-ми годами. Они были нацелены прежде всего на пациентов с ожогами и травмами, находящихся в ОИТР, а также на пациентов гематологического профиля и реципиентов трансплантатов печени [198-202]. Более того, колистин и аминогликозиды являлись первыми и остаются до сих пор одними из наиболее применяемых деколонизирующих препаратов по причине своей минимальной кишечной абсорбции и, соответственно, минимального риска возникновения системных побочных эффектов [203-205].

Отдельные клинические исследования в отношении стратегий деконтаминации высокоустойчивых патогенов у пациентов с различными сопутствующими заболеваниями были опубликованы ранее [206-212], однако до настоящего времени у пациентов с гематологическими заболеваниями выбор, безопасность и эффективность деконтаминации высокоустойчивых грамотрицательных возбудителей оставались неясными (Таблица 6).



Таблица 6. Результаты актуальных клинических исследований по селективной кишечной деконтаминации высокоустойчивых грамотрицательных бактерий [206,207,210,213-215]

Исследование	Основной диагноз пациента	Режим деконтаминации	Уровень деконтаминации	Рост резистентности
Hultner и соавт., Швейцария, 2013	Любой	Колистини неомицин - 10 дней	52% против 37%	Нет
Saidel Odes и соавт., Израиль, 2012	Любой	Гентамицин и полимиксин Е - 7 дней	61% против 16% (неделя 2) 59% против 33% (неделя 6)	Нет
Lubbert и соавт., Германия, 2013	Пациенты ОИТР	Колистин и гентамицин - 7 дней	43% против 30%	К колистину - 19%; к гентамицину - 45%
Zuekerman и соавт., 2011, Израиль	ТГСК/ гематология	Гентамицин-медиана - 27 дней	66%	Нет
Kronman, 2014, "США"	ТГСК	Колистин и амикацин - 10 дней	Успешно	Карбапенем-резист. Escherichia coli
Tasdni и соавт., 2014, Италия	Любой	Гентамицин-медиана - 9 дней (интеркв. 7-15)	96% против 44% в сочетании с системной АБТ	25% оставшихся колонизированными пациентами

Важно подчеркнуть, что при высокой распространенности карбапенем-резистентных грамотрицательных патогенов в условиях гематологического отделения полимиксины остаются одной из немногих терапевтических опций. Коллектив исследователей на базе Республиканского центра гематологии и пересадки костного мозга (г. Минск, Республика Беларусь) предположил, что антибактериальная активность колистина, как неабсорбируемого антибактериального лекарственного средства, может быть использована в кишечнике с деконтаминирующей целью с минимальным риском возникновения системного эффекта. Дизайн исследования был предварительно утвержден и опубликован на официальном сайте Национального института здравоохранения США (NIH) и Национальной медицинской библиотеки США (NLM): A Study of Decolonization in Patients with Haematological Malignancies (DENAM); идентификационный номер: NCT02966457. Более подробно дизайн исследования представлен на интернет-сайте ClinicalTrials.gov.

По результатам теста Хи-квадрат и логистической регрессии, к 14-му дню имелся статистически значимый положительный эффект селективной кишечной

деконтаминации колистином (ОШ 3,32; 95% ДИ 1,17-9,44;  $p=0,0241$ ). Однако к 21-му дню после курса деконтаминации статистических различий в группе интервенции и контроля не было (ОШ 1,14; 95% ДИ 0,41-3,16;  $p=0,7958$ ), что представлено на Рис. 18. Число пациентов в экспериментальной группе, необходимое для получения дополнительного благоприятного исхода, к 14-му дню составило более трех человек (NNT 3,44; 95% ДИ 1,89-18,99;  $p=0,0241$ ).

Важно отметить, что в течение первых 30 дней наблюдения разница в частоте инфекций была весьма ощутима: 3,2% в группе деконтаминации и 12,9% в группе наблюдения, хотя уже через 90 дней статистически значимой разницы не наблюдалось (лог-ранк тест;  $p=0,4721$ ). При этом в течение первых 14 дней после интервенции в группе деконтаминации не было отмечено ни одного эпизода инфекции или фебрильной нейтропении, а позже данные события происходили в обеих группах. Вероятность развития бактериальных инфекций в течение 90 Дней после селективной кишечной деконтаминации в группах интервенции и наблюдения показана на Рис. 19. В исследовании не было ситуаций прекращения применения лекарственного средства по причине серьезных побочных эффектов, в частности по причине отсутствия абсорбции колистина при приеме внутрь. Также не было отмечено увеличения минимальных подавляющих концентраций (МПК) колистина при повторных выделениях колонизирующих патогенов.

Полученные данные позволяют говорить об обоснованности индивидуального решения о селективной кишечной деконтаминации колистином в группе высокого риска развития инфекций на фоне высокодозной химиотерапии в период глубокой нейтропении. Краткосрочность эффекта деколонизации и снижения частоты бактериальных инфекций следует учитывать, назначая данное вмешательство непосредственно перед периодом глубокой химиотерапевтически-ассоциированной нейтропении. Следующим этапом системы профилактики бактериальных инфекций в гематологии является разработка микробиом-ассоциированных моделей лечения колонизации кишечника высокоустойчивыми патогенами у пациентов с иммуносупрессией [25,40,145].

## 7.6 Роль стерильной внешней среды для пациентов с иммуносупрессией

Дебаты о том, как снизить риск инфекционных осложнений у пациентов с медикаментозной иммуносупрессией, развивались одновременно с прогрессом в лечении рака и гематологических заболеваний, а также в трансплантологии. Различные научные школы по-разному оценивали вклад бактерий внешней среды в риск инфекций у иммунокомпрометированных пациентов. Логично предположить, что если для пациента будет создана практически стерильная защитная внешняя оболочка, то инфекций можно будет избежать. Однако в реальном мире все оказалось не так механистично устроено. Даже при внедрении защитных стерильных сред у пациента внутри организма остается массивное сообщество бактерий, грибов и вирусов, которые при определенных обстоятельствах начинают

свою игру против хозяина. Таким образом, полной защиты не предвидится, а отмечается лишь изменение спектра и характеристик инфекций, что обсуждается в этой главе.

Дискуссия о создании изолированных стерильных защитных сред, а также об экономической целесообразности и клинической эффективности защитной изоляции наглядно иллюстрируется опубликованной научной полемикой между двумя основоположниками современной онкологии. Это доктор Gerald P. Bodey из Онкологического центра им. М.Д. Андерсона Техасского университета в Хьюстоне (США) и профессор Корнелльского университета, доктор Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга в Нью-Йорке (США) Donald Armstrong (Рис. 20). Доктор Gerald P. Bodey один из первых предложил и обосновал внедрение защитных изоляционных сред в клинике онкологии и гематологии, а после поддерживал данное направление с конца 1960-х годов [216-219]. В то время как профессор D. Armstrong обозначил не только экзогенный, но и эндогенный характер инфекций, усомнившись в эффективности дальнейшего внедрения защитных сред [220].

Стоит отметить, что дискуссия продолжается активно и сегодня, однако новые методы изучения микриома человека позволили поддержать идеи D. Armstrong об эндогенном характере многих инфекций в онкологии и гематологии, что несколько снизило практическое значение защитных сред на современном этапе.

В настоящее время производство защитных внешних сред продолжается и даже характеризуется многими инновационными внедрениями, в том числе созданием изолированных автономных внешних сред с высококачественной фильтрацией и ламинарным потоком воздуха. Далее будут представлены результаты собственного исследования клинического значения внедрения защитных сред в гематологии. Целью данного проспективного клинического исследования была оценка изменения этиологического спектра и нозологических характеристик инфекций у пациентов группы высокого риска на фоне химиотерапии опухолевых заболеваний кроветворной ткани в контексте внедрения инновационных стационарных защитных сред.

В Республиканском центре гематологии на базе учреждения здравоохранения «9-я городская клиническая больница» (г. Минск, Республика Беларусь) были установлены инновационные стационарные защитные среды Immupair производства компании «Airinspace» (Франция). Используемая в защитной среде система очистки воздуха основана на технологиях, заимствованных из аэрокосмической отрасли. В частности, технология многоступенчатой фильтрации «HEPA-MD» создана на основе технологии, применяемой на Международной Космической Станции для очистки поступающего внутрь воздуха. Используемый модуль в сочетании с блоком очистки воздуха представляет собой автономную изолированную систему палаточного типа для обеспечения защиты иммунокомпрометированных пациентов от воздействия микроорганизмов, летучих соединений и твердых частиц, содержащихся в воздушной среде. В основе многоступенчатой системы

*Микробиом человека*

фльтрации лежит плазменный фильтр, генерирующий мощное ионизирующее излучение. В результате прохождения через все ступени фильтрации, воздух, подаваемый в модуль, соответствует классу чистоты ISO 5 (согласно международному стандарту ISO 14644-1). Такой класс чистоты требуется при проведении хирургических операций по имплантации или трансплантации органов, изоляции пациентов с иммуносупрессией, в том числе после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и химиотерапии. Итак, этиологический спектр и нозологические характеристики инфекций у пациентов на фоне химиотерапии представлены в Таблице 7. Нозологические характеристики инфекционного процесса отражены на Рис. 21.

**Таблица 7. Характеристики инфекций у пациентов в исследовании в зависимости от среды нахождения**

Характеристика инфекционного процесса	Группа стандартной среды предосторожности, абс.(%)	Группа изолированной стационарной среды, абс.(%)	<i>P</i>
<b>Нозология:</b>			
Инфекция кровотока	18 (39,1)	7 (50,0)	0,0263
Пневмония	17 (37,0)	1 (7,1)	
Инф. кожи и мягких тканей	3 (6,5)	2 (14,3)	
Инф. верхних дых. путей		2 (14,3)	
Фебрильная нейтропения	5 (10,9)	1 (7Д)	
<b>Возбудитель:</b>			
Enterobacteriaceae spp.*	17(37,0)	8 (57,1)	0,2514
ГОНБ**	3 (6,5)		
Enterococcus spp.	1 (2,2)		
Коагулазонег. стафилококк		1 (7,1)	
<b>Профиль резистентности:</b>			
Non-MDR	8 (17,4)	2 (14,3)	0,2821
MDR	4 (8,7)	4 (28,6)	
XDR	11 (24,0)	3 (21,4)	

<sup>А</sup>Включали *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus spp.*

\*\* Включали *L. baumannii*, *P. aeruginosa*

Полученные результаты позволяют говорить об эффективности использования изолированных стационарных систем для профилактики развития высокоустойчивых инфекций госпитальной среды, в частности пневмоний и инфекций, вызванных грамотрицательными неферментирующими бактериями (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*). Однако, так как состояние химиотерапевтически-ассоциированного

*микробиома у пациентов с иммуносупрессией*

мукозита формирует так называемое «окно» между микробиотой кишечника и кровью пациента» данные системы не могут защитить от энтерогенных инфекций кровотока, вызванных представителями семейства Enterobacteriaceae spp. (*E. coli*, *K. pneumoniae*). Более того, полученные результаты соотносятся с последними данными о селективном прессинге в пользу энтеробактерий в кишечнике у пациентов на фоне антибактериальной и противоопухолевой терапии [223,224].

Отчетливо видно снижение количества пневмоний, однако их место в спектре нозологий успешно занимают инфекции кровотока, происходящие от колонизирующих кишечник бактерий. Кроме того, показанная смена нозологий инфекций в результате внедрения изолированных палаток внешней среды соотносится с данными о снижении воздушно-капельных инфекций в когорте пациентов детского возраста [225].

Важно отметить, что выполненное исследование проводилось на базе одного учреждения, таким образом, протоколы антимикробной терапии и профилактики, а также изначальные эпидемиологические характеристики внешней среды стационара были практически одинаковы в группах сравнения. Это позволяет с уверенностью утверждать, что выявленные изменения в спектре и характеристиках инфекций связаны с внедрением стационарной внешней среды в гематологии. Стоит подчеркнуть, что выводы исследования базируются в основном на когорте пациентов с острым миелобластомом, однако данная клиническая модель глубокой химиотерапевтически-ассоциированной нейтропении и мукозита наиболее четко отражает патогенез инфекций у других гематологических пациентов с медикаментозной иммуносупрессией. Опубликованные исследования в области микробиома человека продемонстрировали, что разнообразный высокодифференцированный состав кишечной микробиоты имеет защитную реакцию против ряда инфекций, включая способность предотвращать колонизацию кишечника высокоустойчивыми патогенами, а также возбудителями кишечных инфекций [223,226,227], что может в будущем послужить основой для разработки новых лекарственных средств. Отдельно стоит отметить, что внедрение в гематологическую практику инновационных стационарных защитных сред позволяет сместить спектр инфекций у пациентов от наиболее опасных микроорганизмов госпитальной среды к комменсальным микроорганизмам кишечника, что при наличии адекватной системы назначения антибиотиков является гораздо менее угрожающим явлением.

### 7.7 Реакция «трансплантат против хозяина» и микробиом

Напомним, что среди ранних осложнений при проведении трансплантации гемопоэтических стволовых клеток описаны геморрагический цистит (частота 5-25%), веноокклюзионная болезнь печени (частота 3-54%), тромботическая микроангиопатия (частота 4-15%), диффузный альвеолярный геморрагический синдром (частота 1-21%), синдром повышенной проницаемости капилляров [165]. Опаснейшим осложнением ТГСК остается острая реакция «трансплантат против хозяина»

(РТПХ), которая может развиваться у 40% пациентов, перенесших алло-ТГСК. Риск развития РТПХ выше у возрастных пациентов, а также в случае частичной совместности или несовместности донора с реципиентом по HLA-системе. Патогенез РТПХ обусловлен реакцией донорских Т-лимфоцитов против тканей организма реципиента. Клинические проявления РТПХ включают сыпь, холестатический гепатит, тошноту, рвоту, диарею [228,229], а степень их выраженности может быть потенциально опасной для жизни пациента [171,230,231].

Изучение взаимосвязи кишечных форм РТПХ и нарушений состава микриобиома всегда представляло собой одновременно увлекательную и сложную тему. Взаимное влияние РТПХ, кишечного воспаления и сдвига в характеристиках микриобиома нередко приводило к тому, что исследователям было непросто выделить первичный механизм данного комплексного нарушения.

Исследовательская группа из США в недавней публикации как на клинической, так и на экспериментальной модели аллогенной ТГСК, подтвердила, что воспалительные процессы при кишечной форме РТПХ однозначно ассоциированы с серьезными сдвигами в составе кишечного микриобиома [232]. Микриобиом, в свою очередь, способен регулировать интенсивность воспалительных процессов при РТПХ. В экспериментальных моделях РТПХ авторы наблюдали значительное снижение разнообразия видов микриобиома, а также увеличение относительной плотности отряда Lactobacillales и резкое снижение плотности представителей Clostridiales (Рис. 22). В то же время в эксперименте искусственное удаление Lactobacillales из состава микриобиома лабораторных животных усугубляло течение РТПХ, а введение некоторых наиболее массовых видов рода Lactobacillus индуцировало защитные механизмы против РТПХ.

Позже, при исследовании микриобиома кишечника у пациентов с кишечной формой РТПХ, авторами были обнаружены те же характерные сдвиги, что описаны в эксперименте у мышей. Интересно также, что у пациентов с повышенной хаотичностью состава микриобиома в начале процедуры аллогенной трансплантации достоверно отмечался повышенный риск развития РТПХ в последующем. Важным практическим аспектом исследования является подтверждение авторами того, что применение антианаэробных антибиотиков оказало повреждающее воздействие на представителей Clostridiales микриобиома и ассоциировалось с повышенным уровнем летальных исходов на фоне РТПХ [232,233]. Вместе эти результаты предлагают основу для манипуляций с микриобиомом пациентов при выполнении аллогенной ТГСК, что в перспективе позволит снизить частоту и проявления такого опасного осложнения, как РТПХ, и улучшить исходы трансплантации [103,232].

Еще одна научная работа на эту тему продемонстрировала, что существует риск развития рецидива/прогрессии основного онкогематологического заболевания в течение 2-летнего периода наблюдения, т.е. по сути, неэффективность процедуры трансплантации находилась в связи со структурой микриобиома пациентов. В мультивариантном анализе исследователи показали, что более высокая плотность

группы, состоящей в основном из *Eubacterium limosum*, уменьшала у пациентов риск развития рецидива/прогрессии основного заболевания [234]. И наконец, при попытке выявить конкретные защитные виды в составе микробиома человека, которые смогут снизить РТПХ-ассоциированную летальность, исследователи подтвердили защитные свойства важного члена класса Clostridia — кишечного комменсала вида *Blautia* среди различных групп пациентов [233]. Более того, при стратификации пациентов на когорты с большей и меньшей плотностью *Blautia* летальность между данными группами достоверно различалась (Рис. 23). Эта находка говорит о возможном применении в будущем препаратов, содержащих те или иные формы вида *Blautia*, с лечебной или профилактической целью.

## 8. Микробиом и инфекционные заболевания

### 8.1 *C. difficile*-ассоциированная инфекция в контексте кишечного микробиома

*Clostridium difficile* — это грамположительный анаэробный спорообразующий цитотоксин-продуцирующий возбудитель, который в настоящее время конкурирует за лидерство среди инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Хотя *C. difficile*-ассоциированная инфекция (КДАИ) не является новой проблемой и присутствует в больничной среде уже более 30 лет, сейчас она достигла масштабов эпидемии [235,236] и обозначается Центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC) как «непосредственная инфекционная угроза в связи с высоким потенциалом устойчивости к антибиотикам» [237]. На сегодняшний день КДАИ является основной причиной инфекционной диареи у госпитализированных пациентов. При экономическом анализе было выявлено, что диагностика и лечение КДАИ в США обходятся в сумму более 3,2 млрд. долларов в год. Более того, распространенность тяжелых клинических форм и форм инфекции, резистентных к терапии, в последние годы увеличилась из-за диссеминации новых резистентных штаммов *C. difficile* [237-240].

Важно понимать, что распространенность КДАИ значительно выше у пациентов с ослабленным иммунитетом, в особенности у реципиентов ГСК, в сравнении с общей популяцией [241-245]. Устойчивый рост заболеваемости КДАИ продолжается в течение последних десятилетий, активно выявляются устойчивые к антибиотикам штаммы, в том числе и у иммунокомпрометированных пациентов [246,247]. Пациенты оказываются восприимчивыми к развитию КДАИ вследствие антибиотик-ассоциированного повреждения кишечного микробиома, что влечет за собой потерю устойчивости к колонизации и инфекции. Особенно опасной становится ситуация в условиях стационаров, где *C. difficile* легко распространяется среди пациентов через предметы общего пользования и медицинское оборудование. Несмотря на то, что *C. difficile* является облигатным анаэробом, возбудитель способен сохраняться в окружающей среде и легко передаваться другим людям посредством формирования эндоспор. Споры

*C. difficile* попадают в организм человека, после чего могут прорасти в метаболически активные вегетативные формы и размножиться в толстом кишечнике, где условия окружающей среды наиболее благоприятны для анаэробов. Вместе с этим бактерии начинают продуцировать токсины А и В, которые проникают в клетки кишечного эпителия и приводят к нарушению функции тесных межклеточных контактов эпителиального барьера кишечной стенки [170,248]. Данные повреждения и обеспечивают дальнейший патогенез КДАИ, которая может проявляться в пределах от легкой диареи до псевдомембранозного колита с развитием потенциально опасного для жизни пациента токсического мегаколона [242,249].

У госпитализированных пациентов особенно опасна рецидивирующая КДАИ, которая встречается на фоне применения антибиотиков в стационаре. Доказано, что в популяции здоровых людей устойчивость к *C. difficile* опосредована защитными механизмами кишечной микробиоты. Более того, трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) с лечебной целью внедрена в клиниках уже несколько лет [250,251].

При углубленном поиске защитных представителей микробиома, исследователями было обнаружено, что комменсальная бактерия *Clostridium scindens* может ингибировать рост *Clostridium difficile* за счет образования вторичных желчных кислот, а именно дезоксихолевой кислоты и литохолевой кислоты [88]. В эксперименте авторы продемонстрировали, что искусственное заселение кишечника одним видом *C. scindens* или же *C. scindens* в составе микробного коктейля защищало лабораторных животных от колонизации *C. difficile* и развития КДАИ на фоне введения антибиотиков. Более того, при проверке данной теории применительно к человеческому организму было обнаружено, что наличие *C. scindens* в составе микробиома снижало риск колонизации *C. difficile* у пациентов при аллогенной ТГСК на фоне антибиотиков [88].

Важным практическим моментом клинических исследований микробиома стало выделение группой исследователей из США микробного сообщества, а именно трех таксономических групп бактерий микробиома, которые защищают от колонизации и инфекции *C. difficile* (Рис. 24). При исследовании состава микробиома когорты из 234 пациентов, перенесших аллогенную трансплантацию ГСК, среди которых у 53 пациентов (22,6%) развилась КДАИ, было выявлено, что наличие 3 различных бактериальных таксонов независимо коррелировало с защитой от *C. difficile*: тип *Bacteroidetes*, семейство *Lachnospiraceae* и семейство *Ruminococcaceae* [252]. Практическое значение этих научных результатов действительно впечатляет. Подчеркнем, что сохранность в микробиоме данных таксономических групп к моменту приживления трансплантата снижала риск развития *C. difficile*-ассоциированной инфекции на 60%, причем независимо от множества других включенных в анализ клинических и лабораторных факторов.



## 8.2 Механизмы устойчивости микробиома к колонизации патогенами

### 8.2.1 Ключевые представители микробиома, обеспечивающие устойчивость к колонизации

Более 50 лет назад стало известно, что комменсальные анаэробы обеспечивают защиту от экзогенных патогенов [76]. Однако конкретные виды бактерий, способствующие устойчивости кишечника к колонизации различными патогенами, в течение длительного времени не были выявлены. Несмотря на то, что дифференцированный комплексный состав микробиома важен в плане профилактики инфекций и инвазий [253], со временем были получены убедительные аргументы в пользу того, что лишь ограниченное количество видов бактерий необходимо для защиты от таких патогенов, как *C. difficile*, ванкомицин-резистентные энтерококки и *Listeria monocytogenes* [88,254,255].

Данная идея подтвердилась экспериментами, в ходе которых выполнялось сравнение микробиома мышей, резко восприимчивых к колонизации патогенами, и микробиома мышей, устойчивых к колонизации. Учеными было выявлено, что обе группы могли иметь микробиом с одинаково низким индексом разнообразия видов, однако при этом специфические составы определенных таксонов значительно варьировались. Последующий анализ корреляции между восприимчивостью к возбудителям инфекций и распространенностью определенных бактерий микробиома помог идентифицировать виды, которые определяли защиту от патогенов. Таким образом, эти основополагающие исследования привели к недавнему выявлению четырех представителей микробиома, которые при искусственном заселении даже стерильных мышей формировали устойчивость *in vivo* к развитию инфекции, вызванной *Listeria monocytogenes* [255].

Другим важным исследовательским прорывом явилось создание экспериментальной модели ампициллин-резистентной микробиоты (АРМ), искусственное заселение которой приводило к исчезновению эффективности соответствующего антибиотика. Такой подход позволил исследователям проанализировать изолированный защитный эффект отдельных бактерий микробиома в ответ на риск возникновения колонизации ванкомицин-резистентными энтерококками. Это и привело к открытию четырехкомпонентного микробного сообщества, которое защищает кишечный микробиом от данных опасных патогенов [254]. Кроме того, целый ряд исследований выявил отдельные защитные группы бактерий против *C. difficile*, в частности наибольший защитный эффект наблюдался у семейства *Lachnospiraceae* [252,256-258].

### 8.2.2 Прямые механизмы устойчивости к колонизации

Прямые механизмы устойчивости к колонизации обеспечиваются способностью комменсальной микробиоты ограничивать экзогенную микробную колонизацию и предотвращать доминирование эндогенных потенциально опасных

бактерий строго с помощью факторов межбактериального взаимодействия, независимо от регуляторных процессов хозяина [145]. Далее представлена классификация прямых механизмов устойчивости и краткие сведения о них.

#### *А. Конкуренция за питательные вещества*

Наличие питательных веществ в кишечнике является важным источником энергии для членов микробиома и существенно влияет на его состав [259-261]. Среди углеводов кишечника имеются как простые моносахариды, так и сложные полисахариды. Ранее было выявлено, что отдельные патогены, например *Citrobacter rodentium*, ограничены в размножении строго избирательным использованием моносахаридов. Кроме того, было обнаружено, что некоторые члены кишечного микробиома, например комменсальные представители *E. coli*, характеризуются аналогичным избирательным использованием в пищу гликанов, т.е. углеводных звеньев гликоконъюгатов — соединений, в которых сахара ковалентно связаны с белковой цепью. Напротив, другие виды комменсальных бактерий, например *B. thetaiotaomicron*, обладают широкими возможностями использовать в пищу как моносахариды, так и полисахариды. Ряд недавно опубликованных экспериментальных работ продемонстрировал две важные концепции в области микробиома. Во-первых, комменсальные защитные бактерии и патогены, которые имеют сходные предпочтения в плане питательных веществ, конкурируют за одну и ту же метаболическую нишу, что и защищает от колонизации и доминирования патогенов в кишечнике [262]. Во-вторых, комменсальные защитные бактерии с более широкими способностями к усвоению различных типов питательных веществ при определенных обстоятельствах могут конкурировать за более узкую метаболическую нишу с патогенами и таким образом тоже защищать хозяина.

Одно из наиболее интересных исследований показало, что комбинация двух комменсальных видов кишечной палочки смогла в процессе конкуренции исключить представителей потенциально опасной энтерогеморрагической кишечной палочки из ее метаболической ниши и тем самым предотвратить колонизацию кишечника этим видом бактерий [263]. Известно, что в слизистой оболочке кишечника имеется множество типов **Сахаров**, используемых в пищу бактериями. Энтерогеморрагическая кишечная палочка способна использовать в пищу лишь пять типов из этих **Сахаров**, что и определяет ее узкую метаболическую нишу [264]. Также известно, что два штамма комменсальной кишечной палочки, штамм *E. coli* Nissle 1917 и штамм *E. coli* 09-N4 (HS), способны использовать различные, но при этом перекрывающиеся комбинации определенных **Сахаров** [263]. Важно то, что ни один из этих двух штаммов комменсальных бактерий по отдельности не мог использовать в пищу все те пять типов **Сахаров**, которые употребляет энтерогеморрагическая *Escherichia coli*. Однако комбинация этих двух комменсальных штаммов кишечной палочки уже конкурентно поглощает все пять типов **Сахаров**, тем самым полностью занимает метаболическую нишу патогена, в данном примере — энтерогеморрагической *E. coli*.

В эксперименте у мышей, колонизированных только одним из вышеописанных защитных штаммов *E. coli*, не было возможности противостоять колонизации энтерогеморрагической *E. coli*. Однако колонизация уже двумя защитными штаммами *E. coli* успешно предотвращала колонизацию патогеном [263]. Этот эксперимент элегантно показал, что зачастую именно защитные комбинации бактерий необходимы для профилактики инфекции и колонизации опасными патогенами.

Другим механизмом защиты является конкурентная борьба бактерий за сиаловую кислоту в кишечнике. Известно, что многие микроорганизмы используют сиаловую кислоту в качестве источника энергии, а также углерода и азота [265]. Однако для использования сиаловой кислоты бактериями прежде всего должно произойти ее высвобождение из состава муцина кишечника. Некоторые комменсальные бактерии, например *Bacteroides thetaiotaomicron*, выделяют фермент сиалидазу (нейраминидазу), который высвобождает компонент сиаловой кислоты из муцина и таким образом обеспечивает важный источник питательных веществ для окружающего микробного сообщества [266]. Логично, что бактерии микробиома могут противодействовать патогенам, усваивая питательные вещества, например сиаловую кислоту, более эффективно. В эксперименте было установлено, что размножение *C. difficile* в кишечнике мышей коррелировало с концентрацией свободной сиаловой кислоты. При этом у лабораторных животных со здоровым разнообразным микробиомом отмечались более низкие уровни свободной сиаловой кислоты. Это объясняется тем, что данная метаболическая ниша уже эффективно занята локальным микробным сообществом. Интересно, что обработанные антибиотиками мыши имели более высокие уровни свободной сиаловой кислоты в кишечнике, и это способствовало избыточному росту *C. difficile* [267]. Приведенные примеры доказывают, что бактерии здорового микробиома более эффективно, чем *C. difficile*, усваивают сиаловую кислоту, что и способствует ограничению распространения *C. difficile* при попадании возбудителя в ЖКТ человека.

И наконец, было доказано, что *C. difficile* конкурирует за биохимические метаболиты нормального микробиома, а именно за сукцинат. В частности, *B. thetaiotaomicron* продуцирует значительное количество сукцината в качестве побочного продукта процесса обмена углеводов, являясь так называемым первичным ферментом. Среди бактерий выделяют также и вторичные ферментеры, в том числе *C. difficile*, которые конкурируют между собой за потребление сукцината. Напомним, что сукцинат является важным компонентом цикла трикарбоновых кислот (цикл Кребса), т.е. центральной части общего пути катаболизма и ключевого этапа дыхания всех клеток, использующих кислород. В разнообразном дифференцированном микробиоме концентрация сукцината, как правило, низкая, что, вероятно, связано с потреблением сукцината многими вторичными ферментерами микробного сообщества. Однако введение антибиотиков повышает концентрацию сукцината, видимо, по причине антибиотик-ассоциированного повреждения этих комменсальных вторичных ферментеров. В итоге повышенное

количество сукцината позволяет патогену» а именно *C. Difficile*, увеличивать свою зону влияния в кишечнике [268,269].

Таким образом, описанные механизмы прямой конкурентной борьбы бактерий за питательные вещества в микробиоме кишечника вместе и составляют один из наиболее изученных механизмов устойчивости человека к возбудителям инфекций.

#### ***Б. Продукция бактериоцинов***

Бактериоцины представляют собой микробные пептиды, которые активны против других конкурирующих бактерий и против которых сам продуцент имеет специфический механизм иммунитета. Недавний анализ метагеномных образцов, полученных благодаря Проекту микробиома человека, показал, что кластеры генов синтеза малых молекул, включая многие классы бактериоцинов, широко распространены в генетическом материале микробиома человека [270]. Это говорит о том, что данные антимикробные пептиды могут иметь значимое влияние на состав и поддержание стабильности микробного сообщества человека. Считается, что выделение бактериоцинов дает преимущество их продуцентам в плане колонизации уже занятых пространств в теле человека путем антагонизма и вытеснения родственных видов. Бактериоцины, продуцируемые грамотрицательными бактериями, объединяются под названием микроцины, несмотря на то, что представляют собой различные классы пептидов. Микроцины обычно имеют узкий спектр активности, преимущественно против других грамотрицательных бактерий [271-273]. Например, штамм бактерии *E. coli* Nissle 1917 продуцирует два микроцина, и оба участвуют в ограничении чрезмерного роста других бактерий семейства *Enterobacteriaceae* [274,275].

#### ***В. Секреторная система VI типа***

Секреторные системы VI типа были обнаружены только у грамотрицательных бактерий. Чаще всего они как раз и опосредуют взаимодействия между отдельными грамотрицательными видами, находящимися в непосредственной близости. Эти системы выполняют контактный транспорт белков из донорской бактериальной клетки в клетку-реципиент [276]. Эффекторный белок часто является антимикробным токсином и используется в качестве контактного механизма бактериального антагонизма [277]. Целый ряд кишечных патогенов имеет секреторные системы VI типа, например: *Salmonella enterica*, *Citrobacter rodentium*, *Aeromonas hydrophila* и энтероагрегативная *E. coli* [278-282]. Комплексный математический анализ геномов представителей кишечного микробиома из отряда *Bacteroidales* показал, что более половины видов в его составе имеют гены секреторных систем VI типа [283]. Таким образом, эти системы весьма распространены и могут играть важную роль в локальной конкуренции между видами бактерий микробиома, способствуя экологическому гомеостазу.

### 8.2.3 Косвенные механизмы устойчивости к колонизации

Косвенные механизмы устойчивости к колонизации опосредованы регуляторными факторами хозяина, активирующими микробиом-ассоциированную защиту от экзогенных возбудителей [145].

#### *А. Продукция антимикробных пептидов*

Бактерии микробиома способны стимулировать иммунные рецепторы хозяина, что приводит к продукции в организме человека антимикробных пептидов. Антимикробные пептиды производятся в кишечнике клетками Панета и эпителиальными клетками [284]. Данные пептиды нацелены на структуры именно бактериальных клеточных стенок, включая мембрану и слой пептидогликана. Существует важная композиционная разница между бактериальными и эукариотическими клеточными мембранами, что антимикробные пептиды как раз и используют для избирательной борьбы с бактериями [285,286]. Наиболее изученным примером антимикробного пептида является RegIII $\alpha$ , который уничтожает грамотрицательные бактерии путем связывания с пептидогликаном клеточной стенки и образования пор, нарушающих функцию клетки [64,287]. Этот антимикробный пептид эффективно ингибирует рост кишечных патогенов, таких как ванкомицин-резистентный энтерококк и *L. monocytogenes* [65,288]. Бактериальные лиганды, такие как ЛПС или флагеллин, могут воздействовать на специфические иммунные рецепторы кишечника, что запускает антибактериальный ответ, увеличивая экспрессию RegIII $\alpha$ .

Хотя RegIII $\alpha$  и является наиболее изученным примером антимикробных пептидов, он далеко не единственный из идентифицированных молекул. Дефензины представляют собой класс небольших пептидов, которые также повреждают клеточные мембраны бактерий. Альфа-дефензины экспрессируются исключительно клетками Панета в тонком кишечнике и являются одними из наиболее активных антимикробных пептидов в кишечнике человека [289]. Предполагается, что экспрессия  $\alpha$ -дефензинов не зависит от микробных сигналов [290]. Ангиогенин-4 является другим антимикробным пептидом, экспрессируемым исключительно клетками Панета. Ангиогенин, принадлежащий к семейству рибонуклеаз, отличается антимикробным спектром в отношении как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий. Было обнаружено, что колонизация бактерией *Bacteroides thetaiotaomicron* усиливает продуцирование ангиогенина-4 клетками Панета [291].

#### *Б. Поддержание эпителиального барьера кишечника*

Известно, что слизистый слой покрывает и защищает кишечный эпителий, поддерживая пространственное разделение между колониями бактерий и кишечным барьером хозяина [80]. Толщина слизистого слоя зависит, кроме прочего, и от плотности и состава кишечного микробиома. Микробиом обеспечивает базальную стимуляцию иммунным рецепторам, в функции которых находится поддержание активности как эпителиальных, так и иммунных клеток кишечника. Эти

клетки человека моментально реагируют на повреждение эпителия патогенами путем продукции слизи, защиты эпителия и рекрутирования иммунных клеток в очаг воспаления [63,81,85,292].

#### ***В. Метаболизм желчных кислот***

В дополнение к взаимодействию с иммунной системой хозяина, микробиом взаимодействует с его метаболитами, такими как желчные кислоты, превращая их в токсичные вещества, которые, например, ингибируют рост *S. difficile* и ряд других патогенов [86,87].

### **8.3 Механизмы селекции высокоустойчивых патогенов в составе микробиома**

Устойчивые к антибиотикам бактерии сегодня являются основной угрозой мировой медицины. Тем более интересно, что гены устойчивости к антибиотикам распространены не только среди возбудителей инфекций, но также и среди человеческих комменсальных бактерий микробиома. Одно из первых исследований показало, что значительная часть анаэробного сообщества в микробиоме здоровых людей устойчива к одному или нескольким антибиотикам, причем доля таких бактерий значительно увеличивается после лечения антибиотиками [293]. В более позднем метагеномном исследовании микробиома кишечника у здоровых субъектов было установлено, что на мультирезистентные виды бактерий приходится вплоть до 20% от общей плотности микробиома [294]. Хорошо известно, что принимаемые антибиотики значительно способствуют накоплению генов антибиотикорезистентности. Удивительно, но гены антибиотикорезистентности были идентифицированы в микробиоме мумии XI века, в замороженном осадке 30 000-летнего возраста, а также в пещере в Нью-Мехико, которая была изолирована в течение миллионов лет; так что ни один из этих образцов не мог ощутить влияния современных лекарств [295-297]. Более того, как последовательности ДНК, так и структурная организация оперонов генов, идентифицированных в этих древних бактериях, оказались очень похожими на те, которые переносятся в настоящее время устойчивыми микробами.

Резистом — это совокупность всех генов устойчивости к антибиотикам в пределах микробиома. Определяется резистом уже в раннем детстве, например, у младенцев через два месяца после рождения [298]. Более того, резистом расширяется с течением времени, поскольку количество генов антибиотикорезистентности в микробиоме положительно коррелирует с возрастом человека [299]. Вместе эти данные свидетельствуют о том, что устойчивость к антибиотикам изначально присутствует в сообществах бактерий человека. Тем не менее экзогенное воздействие антибиотиков в результате медицинской практики или содержания их в продуктах способно повысить уровни устойчивости и распространенность устойчивых бактерий.

Итак, среди механизмов развития антибиотикорезистентности в контексте

микробиома человека выделяют:

- мутации антибиотикорезистентности *de novo*;
- горизонтальный перенос генов антибиотикорезистентности.

Интересно, что все три механизма горизонтального переноса генов — конъюгация, трансдукция и трансформация — применяются бактериями на фоне лечения антибиотиками [300-302]. Таким образом, поскольку кишечник человека плотно заселен огромным разнообразием микробов, антибактериальная терапия может способствовать диффузии резистентных генов в пределах микробиома, что следует учитывать при назначении антибиотиков.

#### 8.4 Переоценка взглядов на патогенез инфекций дыхательных путей

За последнее десятилетие мы стали свидетелями экспоненциального увеличения числа исследований, связанных с микробиомом человека, начиная с количества в районе 300 работ в 2006 году до почти 8 000 опубликованных исследований в 2016 году. Разработка некультуральных методов идентификации микроорганизмов и снижение затрат на платформы секвенирования позволило интенсифицировать исследования в этой захватывающей области, получить практические выводы и расширить наше представление о многих заболеваниях человека.

Однако даже в ходе описанного нами ранее Проекта микробиома человека изучение микробного сообщества дыхательной системы осталось несколько в стороне от активных исследований. Это произошло частично из-за проблем в методологии сбора образцов материала из нижних дыхательных путей, но также потому, что легкие традиционно считались стерильной средой, свободной от микробов. Тем не менее, наиболее актуальные исследования показали, что нижние дыхательные пути содержат достаточно плотное микробное сообщество, которое выявляется как у здоровых, так и у больных индивидуумов, что и привело к активизации ученых в области изучения микробиома легких человека [303,304].

##### 8.4.1 Характеристики респираторного микробиома

С точки зрения экологии микробиома дыхательная система человека — это последовательность ниш от ноздрей и рта к легким, в которых проживают различные бактериальные сообщества. В недавней публикации исследователи продемонстрировали процесс колонизации плода микроорганизмами начиная с эмбрионального периода [305,306], а также интенсификацию процесса заселения микробами сразу после рождения в основном за счет материнских бактерий, среди которых преобладает влагалищная и кишечная микробиота. Более того, мы уже ранее отмечали, что данный процесс заселения резко отличается у новорожденных естественным путем и с помощью кесарева сечения [44].

Полость носа заселена относительно простым набором микробов с небольшими различиями в составе между детьми и взрослыми. В частности представители *Corynebacterium*, *Propionibacterium* и *Staphylococcus* spp. являются первичными колонизаторами полости носа и сохраняют свое доминирование до взрослого

возраста хозяина, когда к ним часто присоединяется род *Moraxella* [307]. Однако уже микробиом носоглотки является более сложной и динамичной экосистемой, претерпевающей важные изменения и дифференцировку в процессе взросления ребенка, что может продолжаться до 2 лет, резко отличаясь от микробиома взрослых [308,309]. Первоначально носоглотка заселяется представителями *Corynebacterium* и *Staphylococcus* spp., а впоследствии дополняется родом грамположительных бактерий *Dolosigranulum* (в особенности у детей на грудном вскармливании), родами *Alioiococcus* и *Moraxella* [310<sup>1</sup>312]. У взрослых же разнообразие видов микробиома носоглотки обычно снижается, и *Corynebacterium* становится, как правило, доминирующим родом [313,314].

Микробиом полости рта новорожденного изначально очень зависим от характера родоразрешения, но быстро обогащается из внешней среды и получает обилие представителей *Prevotella*, *Neisseria* и *Haemophilus*. Чуть позже, с прорезыванием зубов, увеличивается плотность *Bacteroidetes*, в частности представителей *Veillonella* и *Prevotella* [315]. Несмотря на то, что человек постоянно подвергается воздействию бактерий употребляемой пищи и внешней среды, микробиом полости рта взрослых отличается очень высокой стабильностью с течением времени [316].

Ротоглотка является анатомическим барьером между верхними и нижними дыхательными путями, а также желудочно-кишечным трактом, что приводит к наличию в ней весьма вариабельной бактериальной экосистемы. В ротоглотке у здоровых взрослых описаны: *Streptococcus* spp. (как комменсальные виды, так и потенциально патогенные *S. pneumoniae* и *S. pyogenes*), *Haemophilus* spp., *Neisseria* spp., *Prevotella* spp., *Veillonella* spp. и *Leptotrichia* spp. [317,318].

Подобно тому, как это происходит с микробиомом кишечника и кожи, ранняя колонизация микробами верхних дыхательных путей ребенка играет важную роль в созревании иммунной системы и калибровке иммунного ответа, что было отражено в исследованиях, где у стерильных мышей наблюдались высокий уровень эозинофилии в дыхательных путях и накопление инвариантных NK-клеток (естественных киллеров), что не встречалось у колонизированных микробами мышей [319-321]. Стоит вспомнить, что инвариантные естественные киллеры (iNKT), также известные как классические NKT-клетки или NKT1 типа, — это популяция T-лимфоцитов, которые экспрессируют инвариантный ар T-клеточный рецептор и определенные молекулы, общие с NK-клетками. Хотя iNKT редко встречаются в периферической крови, составляя всего 0,01-1% мононуклеарных клеток крови, они являются важными иммунорегулирующими элементами, производящими большие количества цитокинов, влияющих на все остальные клетки иммунной системы.

Далее перейдем к микробному нижних дыхательных путей. Опубликованные исследования показали, что состав микробиома нижних дыхательных путей у здоровых взрослых значительно коррелирует с аналогичным составом верхних дыхательных путей, особенно ротоглотки, но отличается гораздо более низкой



плотностью бактерий. Плотность бактерий меняется от  $10^8$  бактерий на 1 мл в носоглотке до Ю'-Ю<sup>2</sup> бактерий на 1 мл бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) [322—325]. У детей, однако, дополнительно к снижению плотности отмечался больший вклад бактерий микробиома носоглотки в композицию микробиома легких [326]. Интересные данные опубликовала группа Segal и соавт., где было показано наличие двух разных пневмотипов на основе образцов бронхоальвеолярного лаважа: первый пневмотип, обогащенный бактериями из верхних дыхательных путей и встречающийся у 45% участников исследования, и второй пневмотип из фоновых бактерий [327]. Первый пневмотип ассоциирован с субклиническим воспалительным процессом в легких с повышенным ответом Т-хелперов-17 и может быть полезен для хозяина. Такие выводы основаны на экспериментах с животными моделями пневмонии, вызванной *Staphylococcus aureus* [328].

#### 8.4.2 Микробиом и пневмонии

Несмотря на существенные различия в популяциях пациентов с пневмониями в исследованиях микробиома, сходные результаты описаны целым рядом независимых авторов. Показано, что у пациента с пневмонией отмечается более высокая плотность бактерий в нижних дыхательных путях в сочетании с меньшим разнообразием и равномерностью распределения видов. Как правило, резко доминирует один таксон, отмечается наибольшая частота доминирования *Streptococcus* spp., *Haemophilus* spp. или *Moraxella* spp. Является особенно опасным и часто сочетается с общей потерей разнообразия респираторного микробиома доминирование *Streptococcus pneumoniae*, *Burkholderia* spp., *Vacillales* spp. и, в меньшей степени, *Pseudomonadales* spp. [329,330]. Более того, на фоне пневмонии доминирование одного таксона обычно сохраняется при динамическом отслеживании микробиома легких и особенно увеличивается при интубации пациента [331].

Что касается процедуры интубации и перевода пациента на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ), то во многих публикациях этот фактор отмечается как явление, ассоциированное со стойкими нарушениями микробиома легких. Это отражает практическое применение гипотезы о том, что респираторный микробим основан на равновесии механизмов микроаспирации бактерий из верхних отделов дыхательных путей и механизмов их мукоцилиарного клиренса [330-333]. Таким образом, по данным многих исследователей, интубация является даже более опасным для микробиома фактором, чем антибиотикотерапия, хотя разграничить эффекты этих двух процессов у пациента на ИВЛ по поводу пневмонии очень сложно [304, 330,334].

При дальнейших попытках выявить микробиомные предикторы пневмоний у взрослых было показано, что микробиом ротоглотки с преобладанием *Lactobacillales* (преимущественно *Streptococcus* spp.) ассоциировался с риском развития пневмоний [335].

Весьма интересная научная дискуссия развернулась при оценке влияния микробиома кишечника на инфекции нижних дыхательных путей, в частности,

на пневмонии, вызванные *Streptococcus pneumoniae*. Например, в опубликованной работе Schuijt и соавт. обозначили роль кишечного микробиома в качестве защитного медиатора при пневмококковой пневмонии; так, в проведенном эксперименте микробиота кишечника усиливала функцию первичных альвеолярных макрофагов. К тому же при исследовании авторами оси «кишечник-легкие», была показана ассоциация состава кишечного микробиома с целой группой исходов (диссеминация бактерий, воспалительная реакция, повреждение органов и летальный исход). Интересно то, что в модели пневмококковой инфекции у мышей исследователи выполняли трансплантацию фекальной микробиоты (ТФМ), что приводило к снижению количества бактериальных клеток в легочной ткани и нормализации уровней фактора некроза опухолей- $\alpha$  и интерлейкина-10 через 6 часов после начала инфекции [336]. В ответ на публикацию данной работы Robert R Dickson из университета Мичигана (США) и Michael J. Cox из Имперского колледжа Лондона (Великобритания) усомнились, что данный эффект опосредован именно за счет микробиома кишечника, а не респираторного микробиома, который также повреждается на фоне антибиотикотерапии [337]. В полемике представители Schuijt и соавт. заявили, что, к сожалению, оценка избирательной роли респираторного микробиома нижних дыхательных путей осложнена тем, что во множестве случаев образцы представлены контаминацией бронхоскопа при прохождении верхних дыхательных путей [323,338]. При этом коктейль из антибиотиков (ванкомицина, метронидазола, неомицина и ампициллина), использованный в эксперименте Schuijt и соавт. отличается малой абсорбцией в кишечнике, а также не характеризуется известными эффектами, производимыми на бактерии дыхательных путей [338]. Эта научная дискуссия еще раз демонстрирует, что исследования микробиома различных локализаций выполняются во взаимодействии ученых и находятся сегодня на высоте своей активности.

Одна из последних опубликованных работ в области микробиома открыла ассоциацию определенных защитных микроорганизмов и вирусных инфекций нижних дыхательных путей. В исследуемой когорте 360 пациентов с иммуносупрессией после аллогенной трансплантации ГСК авторами изучались изменения кишечного микробиома, предшествующие вирусным инфекциям, а точнее, определялись уровни ингибиторных короткоцепочечных жирных кислот и характеристики микробного сообщества в сочетании с клиническими данными пациентов [339]. Среди подтвержденных вирусных инфекций нижних дыхательных путей в работе Naak B.W. и соавт. были зарегистрированы аденовирусы, РС-вирусы, коронавирусы, метапневмовирусы, риновирусы, вирусы гриппа А и В, вирусы парагриппа. После выполнения мультивариантного анализа было установлено, что у пациентов с более высоким содержанием в микробиоме бактерий, продуцирующих бутират (ингибиторная КЦЖК), риск развития вирусной инфекции нижних дыхательных путей в течение 180 дней после трансплантации ГСК снижался в пять раз, при этом независимо от других клинических и лабораторных факторов (Рис. 25).

## 8.5 Переоценка взглядов на патогенез ботулизма

В восточно-европейском регионе ботулизм остается актуальным заболеванием. Однако так как основная масса случаев заболевания носит алиментарный характер, т.е. связана с пищей, содержащей токсин, это привело к тому, что патогенез заболевания рассматривается врачами только в контексте экзогенного инфицирования. Последние данные в области изучения микриобиома человека позволили пролить свет на механизм развития ботулизма у пациентов, не имеющих пищевых факторов в эпидемиологическом анамнезе.

Ботулизм — это нейропаралитическое заболевание, которое возникает в результате воздействия нейротоксина, продуцируемого *Clostridium botulinum*. Ботулизм может быть вызван употреблением в пищу токсина в составе продуктов (пищевой ботулизм), колонизации ран *C. botulinum* (раневой ботулизм) или колонизации *C. botulinum* желудочно-кишечного тракта младенцев (ботулизм детского возраста до 12 месяцев) и взрослых (ботулиническая кишечная токсемия взрослых). Из них ботулиническая кишечная токсемия взрослых — редчайшая форма ботулизма, при этом считается, что ее развитие связано с анатомическими или функциональными аномалиями ЖКТ, а также с применением противомикробных средств, которые могут привести к изменениям нормальной кишечной микриобиоты [340,341].

Один из лабораторно подтвержденных случаев ботулинической кишечной токсемии у взрослых описан L. Ragameswaran и соавт., где исследователи с помощью Центра по контролю и профилактике заболеваний (CDC) продемонстрировали эндогенное происхождение токсин-продуцирующего штамма *C. botulinum* у пациента с клиникой ботулизма, развившейся после 2 месяцев госпитализации для выполнения аллогенной трансплантации ГСК [342]. Авторы подчеркивают, что пациент в течение нескольких недель до начала заболевания употреблял исключительно специальную низкомикробную больничную пищу для реципиентов ГСК, которая была тщательно приготовлена по строгим стандартам, при этом других случаев ботулизма в клинике выявлено не было. Раневой ботулизм также исключался в связи с отсутствием повреждений кожных покровов у пациента. Более того, молекулярно-генетическими методами в составе кишечного микриобиома у пациента были обнаружены ботулинический нейротоксин типа А, жизнеспособные бактерии *C. botulinum* типа А, а также выделены гены продукции токсина типа А через 3 недели после появления первых симптомов заболевания.

Чтобы получить представление о составе кишечного микриобиома у этого пациента, команда клиницистов и исследователей собрала и проанализировала образец стула непосредственно перед лечебным введением ботулинического антитоксина. Были выделены, упорядочены и классифицированы таксономические последовательности генов 16s рРНК. Важно то, что в составе микробного сообщества доминировали *Enterococcus faecium* и *Streptococcus salivarius*, это указывает на существенные нарушения микриобиома кишечника [20]. Но еще более важное значение имеет то, что сам этиологический микроб *C. botulinum* также был

идентифицирован в биологическом образце пациента. Относительная плотность клостридий в микробиоме была невелика, однако стоит вспомнить, что ботулотоксин чрезвычайно активен, и наличие даже очень небольшого количества микроорганизмов может привести к заболеванию.

Ботулиническая кишечная токсемия взрослых до сих пор недостаточно изучена с точки зрения микромеханизмов развития. Наиболее вероятно, что наподобие ботулизма детского возраста, продукция токсина происходит эндогенно в ЖКТ у человека, колонизированного *C. botulinum*. Известно, что споры *C. botulinum* регулярно попадают в организм людей из внешней среды и далее выводятся естественным путем, а сформированный кишечник взрослого человека в норме не поддерживает прорастание спор и продукцию токсина [341]. В ранее опубликованных другими авторами случаях ботулинической кишечной токсемии у взрослых все пациенты имели анатомические или функциональные аномалии кишечника из-за оперативных вмешательств, воспалительных заболеваний или антибиотик-ассоциированное повреждение микробиома кишечника [343-346]. В рамках этих знаний становится ясен потенциальный механизм развития эндогенного ботулизма у пациентов с алло-ТГСК, у которых вследствие химиотерапии и приема антибиотиков нарушения микробиома являются весьма частыми [168]. В международных публикациях описан еще один подтвержденный случай ботулинической кишечной токсемии у реципиента ГСК, а именно у 3-летней пациентки после аутологичной ТГСК, которая прошла процедуру селективной деконтаминации кишечника антибиотиками [347]. Противомикробные препараты широкого спектра действия и процедура деконтаминации кишечника действительно могут приводить к значительным нарушениям микробного сообщества кишечника, например, было обнаружено, что мыши, которые подвергались деконтаминации кишечника комбинацией эритромицина и канамицина, были более восприимчивы к колонизации *C. botulinum* [348].

Итак, по результатам обсуждения доказанных случаев эндогенного ботулизма, стоит запомнить, что на практике у пациентов с затяжными симптомами нарушения функции ЖКТ на фоне длительных госпитализаций, включая госпитализации по поводу химиотерапии и трансплантации, имеется реальная возможность развития ботулизма, не связанного с пищей. Так как ранняя диагностика имеет определяющее значение в плане исхода для пациента, то при возникновении острых двусторонних нарушений функции черепно-мозговых нервов с прогрессией к мышечному параличу и дыхательным нарушениям, врачу стоит рассмотреть возможность диагностики ботулизма с помощью молекулярно-генетических методов.

## 8.6 Инфекции мочевыделительной системы и микробиом

Вместе с внедрением передовых молекулярных методов исследования мочи догма о том, что «моча стерильна», была опровергнута. Мочеполовой тракт не является стерильной средой. Вместе со знанием о том, что существует комплексная и

четкая структура микробиома у многих локализаций в организме человека, первые результаты исследований позволили пролить свет на патогенез ряда урологических заболеваний, которые, как ранее полагали, не имели микробной этиологии [349].

Посев мочи на питательные среды по-прежнему считается золотым стандартом диагностики инфекций в урологии [350,351], поскольку он позволяет идентифицировать быстрорастущие аэробные уропатогены с хорошей диагностической точностью. Однако, как и прежде, обычные культуральные методы микробиологии не позволяют выявлять атипичные медленно растущие анаэробные и требовательные в плане питательных сред патогены, такие как, например, *Corynebacterium* и *Ureaplasma*. В то же время достижения в технологии секвенирования микробной 16s рРНК позволили обнаружить наличие богатой и разнообразной микробиоты мочевого пузыря у многих здоровых людей [352]. Важно то, что эти новые технические подходы были использованы для исследования состава микробиома мочевыделительной системы у пациентов с такими диагнозами, как интерстициальный цистит, ургентное недержание мочи и хронический простатит/синдром хронической тазовой боли [353-355]. Например, у пациентов при интерстициальном цистите была отмечена существенно более высокая плотность бактерий рода *Lactobacillus* (>90%) в сравнении с контрольной группой, что авторы ассоциировали с тяжестью симптомов [353,356,357].

В ряде исследований среди когорты женщин с ургентным недержанием мочи отмечалось более высокое содержание *Gardnerella*, а также более частое выявление *Lactobacillus gasseri*, в то время как *Lactobacillus crispatus* чаще обнаруживался в контрольной группе [354,358,359]. Сегодня необходимы дополнительные исследования, чтобы получить более глубокие знания о том, как локальный микробиом влияет на течение обозначенных урологических заболеваний.

## **9. Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) в клинической практике**

### **9.1 ТФМ в лечении *C. difficile*-ассоциированной инфекции**

Известно, что уже несколько десятилетий назад отдельные врачи-новаторы выполняли фекальные трансплантации от здоровых доноров, часто близких родственников, пациентам с рецидивирующими *C. difficile*-ассоциированными инфекциями и псевдомембранозным колитом [360]. Эффективность этого метода уже тогда впечатляла, при этом успех достигался примерно в 90% случаев [361,362].

Стоит вспомнить, что рецидивы *C. difficile*-ассоциированной инфекции могут быть очень тяжелыми и опасными явлениями, а трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) сегодня является наиболее эффективным методом их лечения [250,251]. В то же время следует помнить об инфекционных рисках, которые несет в себе процедура. Один из способов ограничить риски ТФМ — тщательный

**Микробиом человека**

скрининг доноров на предмет инфекционных и воспалительных заболеваний, которые могут быть связаны с кишечным микробиомом (Таблица 8). При этом донорский биоматериал может длительно замораживаться без потери эффективности [363], а введение трансплантата может выполняться посредством назогастральной или назоэнтеральной трубки, гастродуоденоскопии, колоноскопии, гибкой сигмоидоскопии или клизм [364].

**Таблица 8. Минимальный инфекционный скрининг доноров фекального трансплантата [364,365]**

Метод скрининга	Патоген или состояние к изучению		
Микробиологическое исследование стула	<p>Бактерии:</p> <p><i>Clostridium &amp;fficile</i></p> <p><i>Salmonella spp.</i></p> <p><i>Shigella spp.</i></p> <p><i>Vibrio spp.</i></p> <p><i>Helicobacter pylori</i></p>	<p>Паразиты:</p> <p><i>Giardia</i></p> <p><i>Ooptysporidium</i></p>	<p>Вирусы:</p> <p><i>Rotavirus</i></p>
Серологическое исследование крови	<p>Бактерии:</p> <p><i>Treponema pallidum</i></p>	<p>Вирусы:</p> <p>Вирусы гепатита (<i>anti-HAV, HBsAg, anti-HCV, anti-HEV</i>)</p>	
Сбор анамнеза (истории) пациента	<p>Медицинский анамнез:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- инфекционные болезни</li> <li>- воспалительные заболевания кишечника</li> <li>- новообразования кишечника, полипы</li> <li>- хирургические вмешательства на органах ЖКТ</li> <li>- аутоиммунные и аллергические заболевания</li> <li>- иммунодефицита</li> <li>- метаболический синдром (в т.ч. сахарный диабет)</li> <li>- применение антибиотиков в последние 12 недель</li> </ul>	<p>Эпидемиологический анамнез:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- путешествие в зону, эндемичную по днарейным заболеваниям в последние 6 месяцев</li> </ul>	<p>Поведенческий анамнез:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- небезопасное сексуальное поведение</li> <li>- использование внутривенных наркотиков</li> <li>- процедура татуировки или пирсинга в последние 6 месяцев</li> </ul>

Выполнение ТФМ активно внедряется для лечения воспалительных заболеваний кишечника, однако важно понимать, что эффективность достигается только тогда, когда микробиота реципиента носит провоспалительный характер, а донорская микробиота является строго противовоспалительной. Хотя многие виды бактерий микробиома уже идентифицированы, а их роль (воспалительная/противовоспалительная) определена, фекальные образцы от здоровых доноров могут быть очень сложны в плане состава видов, т.е. содержать в себе неидентифицированные виды бактерий с неуточненной функцией. Таким образом, в настоящее время невозможно по анализу состава фекального трансплантата однозначно определить, будет ли эффект от трансплантации противовоспалительный, или, наоборот, усилит воспаление в кишечнике у пациента [366].

Другим важным практическим вопросом является создание более удобной формы доставки препарата с возможностью сохранения спор или самих защитных микроорганизмов в капсулах. Есть мнение, что в итоге, с дальнейшим развитием науки, ТФМ будет заменена на введение комбинаций («коктейлей») полезных микробов.

## **9.2 ТФМ для восстановления устойчивости к колонизации патогенами**

Полученный ранее вывод о том, что здоровый разнообразный кишечный микробиом устойчив к колонизации различными экзогенными патогенами, привел к выполнению исследований эффективности манипулирования микробными сообществами в качестве потенциальной терапии. Первоначальный подход заключался в передаче жизнеспособной микробиоты от здорового донора в ЖКТ реципиента, т.е. выполнялась процедура трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ). Четкое доказательство преимуществ ТФМ в плане восстановления микробиоты реципиента было продемонстрировано известным рандомизированным клиническим исследованием, опубликованным в *New England Journal of Medicine* еще в 2013 году [250]. Результат дуоденального введения подготовленного и очищенного раствора, полученного от здорового донора, был значительно более эффективным, чем традиционная антибактериальная терапия рецидивирующей *C. difficile*-ассоциированной инфекции. Дополнительные экспериментальные исследования показали, что после процедуры ТФМ мыши успешно справлялись с колонизацией кишечника ванкомицин-резистентными энтерококками и *Klebsiella pneumoniae* [254,367]. Более того, уже опубликованы данные об успешном опыте терапии инфекций, вызванных *C. difficile* и полирезистентной *Klebsiella pneumoniae*, с помощью трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) у пациентов после алло-ТГСК. В данное исследование было включено 3 пациента после аллогенной ТГСК, которым была выполнена ТФМ от родственного донора с целью терапии антибиотикорезистентного псевдомембранозного колита,

ассоциированного с *Clostridium difficile*. Микробиота донора вводилась последовательно в двенадцатиперстную и в слепую кишку, и в результате у всех пациентов после ТФМ отмечалось появление микробиоты донора, эрадикация полирезистентной *Klebsiella pneumoniae* и *Clostridium difficile*, а также купирование синдрома мальдигестии и мальабсорбции [368].

Однако, несмотря на свою доказанную эффективность, ТФМ по-прежнему остается комплексной и затратной процедурой, которая рутинно выполняется в редких центрах. Состав фекального трансплантата варьируется, является не полностью определенным и весьма сложным. Хотя в своем составе он и содержит защитные виды бактерий, однако одновременно несет в себе и некоторые риски, которые невозможно достоверно обнаружить посредством существующих технологий. Эти риски зависят от состава микробиоты и генотипа реципиента и включают возможность передачи неидентифицированных патогенов и других микробов, ассоциированных с развитием многих расстройств, включая ожирение, метаболический синдром и аутоиммунные заболевания [366]. Следовательно, выделение и всестороннее описание конкретных защитных бактериальных видов, которые опосредуют устойчивость к колонизации и защищают от других заболеваний, помогут стандартизировать терапевтический эффект и уменьшить риск непредсказуемых результатов. Вместе это и является будущим микробиом-ассоциированной медицины.

## 10. Микробиом и неинфекционные заболевания

Микробиом человека может способствовать развитию заболеваний с помощью целого ряда механизмов, включая продукцию токсичных веществ, способность к избыточному росту и поддержку воспалительных процессов. Многие факторы, такие как диета, воспалительные заболевания и нарушения состава микробиома, могут запускать как защитные, так и потенциально опасные функции бактерий в организме человека. На протяжении последних лет вместе с активизацией изучения темы микробов в организме человека стали появляться интереснейшие данные об ассоциации, как ранее казалось, неинфекционных заболеваний с микроорганизмами (Таблица 9). В этом разделе мы приведем актуальные данные о роли комменсальных бактерий в патогенезе неинфекционных заболеваний. В центре внимания ученых по всему миру находится вопрос о роли нарушений кишечного микробиома в развитии инсулинорезистентности, эндотелиальной дисфункции, дислипидемии, повышении артериального давления, ожирении. Практический акцент ставится на то, что для предотвращения кардиометаболических заболеваний, помимо реализации уже хорошо известных профилактических мероприятий, важно сохранение разнообразного состава кишечного микробиома [369].



**Таблица 9. Наиболее известные работы о микриобиоме в контексте патогенеза неинфекционных заболеваний [26,59,60,370,371,371-383]**

Основное заболевание	Ссылки на исследования	Краткое заключение авторов
Аллергия	Round и соавт., 2009-2011; Arnold и соавт., 2011	Колонизация кишечника <i>Lactobacillus</i> и высокий уровень разнообразия микриобиома снижает риск возникновения аллергий
Ожирение	Ley и соавт., 2005; Pflughoeft и Versalovic, 2011; Turnbaugh и соавт., 2014	Значительные изменения состава кишечного микриобиома ассоциированы с ожирением
Воспалительные заболевания кишечника	Sartor и соавт., 2017; Dicksveld и соавт., 2008; Spog и соавт., 2011; Thorburn и соавт., 2014	Болезнь Крона и восп. заболевания ассоциированы со снижением разнообразия микриобиома
Сахарный диабет	Udayappan и соавт., 2014; Vrieze и соавт., 2012; Zhang и соавт., 2012	Смещение спектра кишечного микриобиома ассоциировано с повышенным уровнем глюкозы в крови
Атеросклероз	Turnbaugh и соавт., 2006; Ridaura и соавт., 2013; Koeth и соавт., 2013	Микриобиомный метаболизм фосфатидилхолина и L-карнитина регулирует процесс атеросклероза

### 10.1 Метаболический синдром

Метаболический синдром определяется как комплекс связанных на биохимическом и патофизиологическом уровне факторов, обуславливающих чрезвычайно высокий суммарный риск развития ишемической болезни сердца и других заболеваний, связанных с атеросклерозом. В составе метаболического синдрома выделяют следующие компоненты: абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, повышенный уровень глюкозы в крови, нарушение липидного обмена (высокий уровень триглицеролов, низкий уровень липопротеидов высокой плотности в крови) [384,385].

Диета глубоко влияет на состав и функции кишечной микриобиоты [260,370] и тем самым может способствовать развитию этой опасной болезни. Например, было доказано, что введение в пищу искусственных подсластителей у мышей и людей приводит к сбою регуляции микриобиоты кишечника с нарушением биодegradации гликанов, снижением толерантности к глюкозе и развитием преддиабетического состояния [386]. Недавно была продемонстрирована роль микриобиома

в регулировании гликемической реакции с помощью математической модели прогнозирования постпрандиальных (через 2 часа после еды) уровней глюкозы у пациентов на основе многих параметров, в том числе и состава микробиома [387]. Другими исследовательскими группами на основе метагеномного анализа была выявлена корреляция между отдельными бактериальными таксонами в кишечнике и сахарным диабетом 2-го типа [388,389]. Интересно, что лечение метформином значительно влияло на состав микробных сообществ кишечника в когортах пациентов с диабетом [390].

Кишечный микробиом также играет ключевую роль в патогенезе ожирения. Действительно, эксперименты показали, что это состояние можно перенести от мышей или людей с ожирением к здоровым мышам посредством искусственного заселения (трансплантации) микробиоты биологических образцов [26,371]. Эти исследования убедительно демонстрируют также то, что характер питания определяет выбор определенных штаммов комменсальных бактерий с повышенной способностью к усвоению энергетических субстратов.

Среди прочего исследователями из Токио было выявлено, что у лабораторных мышей с ожирением чаще присутствуют нарушения микробиома, а именно выраженное увеличение относительной плотности бактерий класса Clostridia, которые известны активной продукцией дезоксихолево́й кислоты, что способствует возникновению воспалительных реакций в печени, а также может предрасполагать хозяина к развитию рака печени [391]. Кроме того, в данной экспериментальной модели было показано, что диета с низким содержанием жиров, антибактериальная терапия или фармакологическое ингибирование микробной трансформации первичных желчных кислот во вторичные оказывало защитное действие. Другой исследовательской группой на мышинной модели колоректального рака было установлено, что продуцируемый бактериями бутират усиливал пролиферацию эпителиальных клеток кишечника, а также частоту образования полипов в кишечнике и даже развитие опухолевых образований [392].

Кроме того, ряд недавних исследований показал связь между микробиомом и атеросклерозом. Фосфатидилхолин (фосфолипид), содержащийся во многих пищевых продуктах, и L-карнитин, содержащийся в красном мясе, трансформируются кишечной микробиотой в проатерогенный триметиламин. Установлено, что диеты с добавками L-карнитина и фосфатидилхолина приводят к образованию атером и формированию атеросклеротических изменений в аорте у лабораторных животных, а интенсивность процесса может регулироваться назначением антибиотиков [372,393,394]. У людей было обнаружено, что назначение L-карнитина или фосфатидилхолина увеличивало уровень триметиламина в плазме, а также риск развития сердечно-сосудистых заболеваний; и наоборот, лечение антибиотиками уменьшало уровни триметиламина [372,393]. Любопытно, что у субъектов на вегетарианской диете отмечалась сниженная или отсутствующая способность продуцировать триметиламин после добавления L-карнитина. Авторами было предположено, что бактерии микробиома, отобранные вегетарианской

диетой, не обладали возможностью активно выполнять эту биохимическую конверсию [372]. В целом эти исследования убедительно демонстрируют важную роль микробиоты кишечника в патогенезе атеросклероза. Следующая научная работа показала, что добавление в пищу мышам аналога холина, который ингибирует образование триметиламина, позволило предотвратить быстрое развитие атеросклероза [395]. Таким образом, возможности микробиома представляют собой весьма перспективную нишу для разработки фармакологических препаратов для лечения и профилактики атеросклероза.

Сахарный диабет (СД) 2-го типа представляет собой заболевание, в основе которого лежит как наличие резистентности к инсулину (невосприимчивости клеток к воздействию гормона), так и нарушение его секреции клетками поджелудочной железы. Ранее было показано, что воспалительные процессы при метаболических заболеваниях ассоциированы с изменениями микробиома кишечника [388,396-398]. В последнее время связь между микробиомом и патофизиологией СД 2-го типа была изучена в двух независимых исследованиях, где сравнивались характеристики микробиома здоровых субъектов и пациентов с СД 2-го типа. Так, увеличение относительной плотности бактерии *Clostridium clostridioforme* и снижение плотности штамма бактерии *Roseburia* при сахарном диабете были продемонстрированы независимо как в китайской, так и в европейской популяции [373,389]. Соответственно, повышенные уровни бактерии *Roseburia* в микробиоме были связаны с улучшенной чувствительностью к инсулину после трансплантации микробиоты кишечника от здоровых доноров реципиентам с метаболическим синдромом [373]. Эти эффекты объяснялись разной продукцией короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) у различных бактерий в микробиоме. В частности, показано, что пропионат и бутират (КЦЖК) уменьшают уровень воспаления, регулируют пролиферацию и дифференцировку клеток и индуцируют высвобождение гормонов [374,399-402]. Действительно, бутират, продуцируемый кишечными бактериями, по-видимому, играет важную роль в регуляции уровня глюкозы крови и метаболизме липидов, о чем свидетельствуют опубликованные исследования по фекальной трансплантации [373,375]. Актуальные молекулярно-генетические работы продемонстрировали, что определенные составы микробиома с собственными профилями продукции КЦЖК оказывали разное воздействие на эпигенетическую регуляцию генов ожирения [403].

## 10.2 Ось «кишечник-центральная нервная система»

За последние несколько лет был достигнут серьезный прогресс в характеристике взаимодействий между центральной нервной системой, локальной нервной системой кишечника и самим желудочно-кишечным трактом. Серия революционных доклинических исследований показала важную роль микробиома кишечника во взаимодействиях с центральной нервной системой. Основываясь на исследованиях с использованием стерильных от микробов мышей, исследователи выяснили, что микробиом способен влиять на эмоциональные реакции, системы регуляции

стресса и болевых реакций, а также на нейромедиаторы в ЦНС. В то же время для формулировки однозначных выводов в отношении функционирования оси «микробиом-ЦНС» пока что не хватает объемных доказательных исследований на человеческой популяции [404].

Среди экспериментальных исследований взаимодействия микробиома кишечника с ЦНС стоит отметить работы, посвященные нейрорегуляции при функциональных расстройствах ЖКТ [405,406], а также роли микробиома в патогенезе расстройств аутистического спектра [407,408], болезни Паркинсона [398], аффективных расстройств [408,409] и хронической боли [410]. Интересным направлением сегодня является изучение циркадных ритмов микробиоты. Известно, что жизнь на Земле диктуется циркадными изменениями в окружающей среде, вызванными вращением планеты вокруг собственной оси. При этом все формы жизни развили циркадные системы, чтобы адаптировать свою физиологию к суточным изменениям геофизических параметров. Важно понимать, что бактерии микробиома кишечника также служат сигнальным центром между хозяином и внешней средой. Например, недавно Thaiss и соавт. обнаружили, что микробиота подвергается суточным колебаниям в плане ее состава и функций и что эти колебания важны для поддержания метаболического гомеостаза хозяина [9,411].

Тем не менее, несмотря на полученные экспериментальные лабораторные данные, сегодня необходимы тщательно разработанные клинические исследования для определения практического применения знаний о связи кишечного микробиома и ЦНС у людей. Эти исследования должны включать в себя характеристику профилей и метаболической активности микробиома у крупных когорт пациентов с учетом генетики хозяина, привычек питания, использования лекарств, состояния здоровья и сопутствующих заболеваний по сравнению с тщательно подобранными группами контроля. Контролируемые интервенционные исследования также необходимы для тестирования потенциальных эффектов пробиотиков, антибиотиков, модификаций диеты и, возможно, трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ) у пациентов с нарушениями центральной нервной системы. Далее мы обозначим основные практические вопросы в области ассоциации микробиома с центральной нервной системой человека.

#### *А. Влияет ли пол человека на функцию оси «микробиом-ЦНС»?*

В экспериментальных исследованиях на животных было выявлено, что изменения в составе микробиома приводили к изменениям молекулярных сигнальных взаимодействий в ЦНС, при этом отмечались различия у особей разных полов [412,413], однако поведенческие изменения не были зафиксированы. Половые различия могут иметь особое значение в заболеваниях психической сферы, поскольку женщины значительно чаще, чем мужчины, страдают от тревожных и депрессивных расстройств [414-416]. Задача будущих исследований — изучить потенциальные половые различия в поведении в ассоциации с нейробиологическими субстратами, в т.ч. микробиомом у людей.

**Б. Влияет ли состав микробиома на обучаемость и память человека?**

Несколько опубликованных исследований показали связь между микробиомом, обучаемостью и памятью [417,418]. В дальнейшем важно будет расширить эту область исследований, в частности изучить роль микробиома в процессе развития ЦНС и в нарушениях обучаемости у детей.

**В. Каково воздействие микробиома на развитие центральной нервной системы человека?**

Использование антибиотиков у детей существенно влияет на характеристики микробиома [419], и все же ассоциация данных нарушений с процессом развития ЦНС неизвестна. Важно отметить, что детский возраст — это период, когда структура и функция микробиома наиболее динамичны, и поэтому необходимо изучить, как взаимодействие мозга и комменсальных микроорганизмов может влиять на процесс развития ЦНС и риск развития психических заболеваний.

**Г. Какова роль оси «микробиом-ЦНС» в развитии расстройств аутистического спектра у детей?**

Несколько исследований сообщили об изменениях профилей микробиома у пациентов с расстройствами аутистического спектра [420-424]. Хотя эта область исследований является принципиально новой и консенсус по оценке результатов исследований еще не установлен, это явно перспективное поле для клинических исследователей.

**Д. Насколько важно исследование индивидуального микробиома в популяции пациентов с психиатрическими заболеваниями?**

Активная исследовательская работа сегодня продолжается по решению вопроса, можно ли перенести выявленные в экспериментах на животных микробиом-ассоциированные нарушения функции ЦНС в клинику, особенно в группах пациентов с психиатрическими заболеваниями. Эти исследования помогут ответить на вопрос, как комменсальные бактерии влияют на характеристики личностей людей.

### **10.3 Заболевания печени в контексте микробиома**

Поскольку известно, что 70% крови поступает в печень из воротной вены (*v. portae hepatis*), которая собирает кровь от всех остальных непарных органов брюшной полости, то вполне понятно, что и микробные токсины, и непосредственно микроорганизмы постоянно попадают в печень. То есть функции печени могут зависеть от состава и характеристик кишечных микробов, и главным образом микробных метаболитов.

В нормальных условиях, когда небольшое количество бактерий или бактериальных токсинов попадает в печень, большинство из них удаляется клетками Купфера. Однако в тех случаях, когда кишечный барьер поврежден воспалительными процессами или, например, в случае портальной гипертензии, гораздо большее

количество бактерий может поступать в печень из кишечника и активировать клетки Купфера (специализированные макрофаги) и звездчатые клетки печени (клетки Ито). Одним из важных факторов патогенеза заболеваний печени является бактериальный липополисахарид (ЛПС), который активирует вышеобозначенные клетки печени посредством связывания с TLR-рецептором на их поверхности [425]. После активации этих клеток печени начинается продукция провоспалительных цитокинов, которые и участвуют в повреждении ткани печени [426]. Следует также отметить, что алкоголь, как было установлено, нарушает плотные соединения кишечного эпителия и, соответственно, нарушает функцию кишечного барьера, что приводит к бактериальной транслокации и увеличению проникновения метаболитов бактерий в портальную вену печени [427]. К тому же нарушение функции эпителиального барьера кишечника у пациентов с циррозом печени нередко приводит к очень опасному хирургическому осложнению — спонтанному бактериальному перитониту, что на фоне других сопутствующих печеночных нарушений может быть фатальным для пациента. Более того, нарушения перистальтики кишечника, повышенная проницаемость кишечного барьера и повышенная концентрация провоспалительных цитокинов в кишечнике, обнаруженные при циррозе печени с портальной гипертензией, оказывают дополнительное негативное влияние на печень [428]. Актуальные суммарные данные по изменениям кишечного микробиома при заболеваниях печени представлены в Таблице 10.

**Таблица 10. Изменения профиля кишечного микробиома при различных заболеваниях печени [429-435,435,436]**

Заболевание печени	Характерный профиль микробиома	Ссылки на исследования
<b>Неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП)</b>	Bacteroidetes i	Тмајоји соавт., 2012
	Prevotella f	
	Porphyromonas f	
<b>Цирроз печени</b>	Enterobacteriaceae f	Сhса и соавт., 2011; Lu и соавт., 2011; Qin и соавт., 2014
	Streptococcaceae	
	Bifidobacteria I	
	Lachnospiraceae j	
	Bacteroidetes	
	Firmicutes J.	
	Streptococcus spp. t	
<b>Синдром алкогольной зависимости</b>	Veillonella spp. f	Fukui и соавт., 1991; Rivera и соавт., 1998
	Bacteroidaceae j.	
	Prevotellaceae	

Заболевание печени	Характерный профиль микриобиома	Ссылки на исследования
Алкогольный (токсический) цирроз печени	Enterobacteriaceae j	Tuomiso и соавт., 2014
<b>Цирроз печени с энцефалопатией</b>	Porphyromonadaceae t	<b>Вајај и соавт., 2012</b>
	Alcaligenaceae f	

Неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП) сегодня является весьма распространенным заболеванием во всем мире, что также связано с ростом числа пациентов с ожирением и метаболическим синдромом. Считается, что около 10% пациентов с НЖБП имеют реальный риск прогрессии заболевания до неалкогольного стеатогепатита, а также цирроза печени и даже гепатоцеллюлярной карциномы (рака печени). Поскольку теперь стало очевидно, что микриобиом кишечника играет важную роль в процессе переваривания пищи, метаболизме энергии и развитии ожирения [437], роль микриобиома кишечника в развитии и прогрессировании НЖБП стала центром активных исследований.

Известно, что у пациентов с циррозом печени процессы сниженного выделения желчных кислот [438,439] и портальная гипертензия [440] могут существенно влиять на состав и плотность микриобиома кишечника. Более ранние исследования [430,431] показали, что в микриобиоме у пациентов с циррозом печени отмечена более высокая плотность патогенных бактерий, таких как Enterobacteriaceae spp. и Streptococcaceae spp., и более низкая плотность комменсальных бактерий, таких как Bifidobacteria spp. и Lachnospiraceae spp., в сравнении со здоровыми людьми из контрольной группы. Интересно, что независимо от этиологии цирроза печени, состав микриобиома менялся сходным образом у большинства пациентов в сравнении со здоровой популяцией. Это говорит о том, что микриобиом все же больше зависит от патологических изменений в ткани и функции печени, чем от причины их вызвавшей. Более того, наблюдалась положительная корреляция между оценками шкалы тяжести цирроза по Чайлд-Пью у пациентов и плотностью Streptococcaceae spp. в микриобиоме, тогда как, например, плотность Lachnospiraceae spp. значительно снижалась у пациентов с циррозом и находилась в обратной корреляции с оценками шкалы Чайлд-Пью [430,431]. Также важно, что более высокое содержание в микриобиоме пациентов с циррозом Streptococcus spp. и Veillonella spp. по сравнению со здоровыми людьми патофизиологически объединяется тем фактом, что эти бактерии более характерны для микриобиома полости рта, а не кишечника [432].

Печеночная энцефалопатия является серьезным осложнением, часто встречающимся у пациентов с прогрессирующим циррозом печени. При этом энцефалопатия характеризуется обратимым когнитивным расстройством, которое вызвано не повреждением головного мозга, а воздействием токсических веществ, продуцируемых микриобиотой в кишечнике. Хотя и принято считать, что аммиак является основным фактором, вызывающим печеночную энцефалопатию,

другие вещества, такие как меркаптаны, фенолы, коротко- и среднецепочечные жирные кислоты, а также соединения, подобные бензодиазепину, могут способствовать развитию такого состояния у пациентов с циррозом. Поскольку большинство этих факторов продуцируются или метаболизируются микробиотой кишечника, то естественно, что анализ состава микробного сообщества будет важен как для понимания, так и для управления процессом развития печеночной энцефалопатии.

Не так давно Yoshimoto и соавт. [56] сообщили, что в экспериментах по канцерогенезу у мышей с ожирением наблюдались изменения микробиома кишечника, что приводило к увеличению продуцирования микробной дезоксихоловой кислоты в кишечнике, которая, как известно, способна вызывать повреждение ДНК. Повышенные уровни дезоксихоловой кислоты в процессе энтеропеченочной циркуляции индуцируют сенесцентный секреторный фенотип у звездчатых клеток Ито в печени, которые и начинают выделять провоспалительные и канцерогенные факторы. Для более полного понимания процесса напомним читателю, что такое сенесцентные (старые) клетки. По версии профессора James L. Kirkland, директора Центра по изучению проблем старения в клинике Мейо (США), сенесцентные клетки — это «хорошие граждане, но плохие соседи». Так их называют, когда нужно объяснить, зачем разрабатывается терапия для устранения сенесцентных клеток из организма. Считается, что эти стареющие клетки поддерживают частичную функциональность, но разрушают свою микросреду. Сенесцентные клетки не могут делиться, зато они активно выделяют ряд медиаторов воспаления, в том числе цитокины, хемокины и протеазы, благодаря так называемому сенесцентному секреторному фенотипу, ассоциированному с процессом старения. Число клеток с таким секреторным фенотипом увеличивается во многих тканях с возрастом [441-444].

Если вернуться к эксперименту Yoshimoto и соавт., то мы видим, что у мышей с нарушениями состава микробиома, ожирением и сенесцентным секреторным фенотипом клеток Ито в печени быстро развивался рак печени после нагрузки химическим канцерогеном, в отличие от контрольной группы [391]. Эти впечатляющие данные показывают, что бактериальные метаболиты кишечника могут способствовать развитию рака печени на фоне ожирения. Таким образом, прогресс в изучении микробиома в скором времени может внести коррективы не только в понимание патогенеза заболеваний печени, но и предложить эффективные микробные методы их коррекции.

#### 10.4 Микробиом в акушерстве и гинекологии

На протяжении многих лет активных исследований с помощью традиционных микробиологических методов, а именно культивирования на питательных средах и микроскопии, изучалась микробиота влагалища. На основе этих ранних работ состав микробиоты оценивался здоровым, когда в нем преобладали перекись-продуцирующие *Lactobacillus* spp. и среди них наибольшим вкладом от-



мечался *Lactobacillus crispatus*. Внедрение молекулярно-генетических методов за последнее десятилетие значительно углубило понимание структуры и вариаций микробиоты влагалища в норме и при патологии. Теперь ясно, что разнообразие бактериальных видов в ее составе намного сложнее, чем признавалось в ранних публикациях [445].

Ведущая исследовательская группа из Хьюстона (США) и ряд других ученых доказали, что состав влагалищного микробиома индивидуально варьируется во время беременности [446-448], что способно влиять на плод и течение беременности. Достаточно давно было высказано предположение о том, что внутриутробные инфекции, такие как хориоамнионит, являются следствием восхождения микробиоты из урогенитального тракта [449], а развитие опасных для новорожденного состояний, таких как неонатальный сепсис и некротизирующий энтероколит, ассоциировано с перемещением бактериальной флоры матери к новорожденному [450,451]. Однако в наступающую эпоху микробиом-ассоциированной медицины эти догмы ставятся под сомнение, и мы начинаем понимать, что многие так называемые «стерильные» ниши — особенно в женской репродуктивной системе (например, плацента) — могут являться и в норме низкоактивными экологическими нишами для микроорганизмов, которые несут на себе ряд важных для человека функций [446].

Поразительно, что, например, доминирование лактобацилл в составе микробиома влагалища уникально для людей: в то время как относительное количество лактобактерий во влагалище у женщин обычно составляет >70%, у других млекопитающих лактобациллы редко составляют более 1% влагалищного микробиома [452]. Было предложено несколько гипотез, объясняющих такой уникальный влагалищный микробиом человека, включая его роль в репродуктивной физиологии человека, высокий риск развития заболеваний, передающихся половым путем, и высокий риск возникновения инфекционных осложнений, связанных с беременностью и родами.

В процессе исследования динамики состава микробиома влагалища во время нормально протекающей беременности исследователи из Великобритании показали, что к 6-й неделе после родоразрешения доминирование *Lactobacillus* spp. снижалось, а разнообразие других видов увеличивалось [453]. При дальнейшем анализе влагалищного микробиома у небеременных здоровых женщин репродуктивного возраста исследователи выделили 5 бактериальных типов состава микробиома [454]. Четыре из них характеризуются доминированием видов *Lactobacillus* spp., включая *L. crispatus* (тип I), *L. gasseri* (тип II), *L. iners* (тип III) и *L. jensenii* (тип V). В IV типе влагалищного микробиома отмечалась низкая относительная плотность *Lactobacillus* spp., при этом выявлялось высокое разнообразие видов анаэробных бактерий: *Prevotella*, *Dialister*, *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis*, *Megasphaera*, *Peptoniphilus*, *Sneathia*, *Fingoldia* и *Mobiluncus*. Последние из обозначенных бактерий часто ассоциируются с клиническими симптомами бактериального вагиноза, состояния с наличием неприятного запаха и влагалищного

отделяемого у женщин, что к тому же было связано с риском преждевременных родов [455,456] и гистологически подтвержденного хориоамнионита [457,458]. Интересно, что в США исследователи выяснили: в микробиоме влагалища у женщин азиатского происхождения и женщин европеоидной расы чаще преобладают *Lactobacillus* spp. (типы I, II, III и V), тогда как в темнокожих и латиноамериканских популяциях чаще встречается высокоразнообразный микробиом (тип IV), что может **объясняться** генетическими различиями, влияющими на его состав [454,459].

Наиболее активно сегодня исследуется вопрос, какие характеристики микробиома влагалища могут быть предикторами преждевременных родов. И уже получены первые данные на эту тему, например, Нушап и соавт. показали, что беременные с более высокой плотностью лактобацилл во влагалище имели меньший риск преждевременных родов [460].

Также важно вспомнить, как длительное время в медицине считалось, что плацента является стерильным от микробов органом при нормальной беременности, а присутствие бактерий по результатам микробиологических посевов является диагностическим показателем для внутриутробной инфекции и значительным риском преждевременных родов [461]. Тем не менее все большим количеством исследователей признается несоответствие между исходом беременности и наличием бактерий в плаценте по результатам стандартных микробиологических культуральных методов исследования [462-468]. Ведь действительно, присутствие в плаценте бактерий в отсутствие гистологических признаков инфекционного воспаления было неоднократно обнаружено за последние несколько десятилетий [461, 467,469-471]. Это привело к пониманию необходимости углубленного изучения данного вопроса и смены устоявшихся догм о роли внутриутробных бактерий при беременности [446].

Стоит также вспомнить, что опасность попадания микробов полости рта в кровоток на фоне периодонтита или стоматологических процедур хорошо известна [472], и более того, уже несколько десятилетий многими авторами доказывалось, что периодонтиты у беременных ассоциированы с повышением риска преждевременных родов [473-475]. В дополнение к этому на экспериментальных моделях у животных показали, что бактерии из полости рта могут распространяться гематогенно в плаценту [476,477] и могут быть связаны с осложнениями беременности [476,478,479]. При этом бактерия *Fusobacterium nucleatum* является возбудителем из полости рта, который наиболее часто встречается в диагностических образцах после преждевременных родов, разрыве плодных оболочек и мертворождения [462,480,481]. К тому же Aagard и соавт. обнаружили *Fusobacteria* в достаточно высокой плотности в микробиоме плаценты, и эта теория еще более подкрепляется обнаружением бактерий в пуповинной крови [446,447,482].

Итак, мы описали текущее состояние науки по ряду аспектов женского репродуктивного микробиома. То, что мы знаем сегодня о комменсальных бактериях в области акушерства и гинекологии, это гораздо более сложная и многогранная

картина в сравнении с тем, как это оценивалось еще 10 лет назад. Влагалищный микробиом значительно варьируется от одной женщины к другой на протяжении всей жизни и ассоциирован с рядом состояний. Даже считавшиеся ранее «стерильными» органы женской репродуктивной системы, оказывается, содержат небольшие количества бактерий микробиома. Влияние антибиотиков на микробиом у женщин еще предстоит более точно охарактеризовать, а системный анализ микробиома в аспекте репродуктивного здоровья, несомненно, прольет свет на наиболее значимые и запутанные нарушения этой сферы. Эта сложная область исследований в сочетании с метагеномными технологиями в будущем позволит ученым-репродуктологам разгадать тайны не только о здоровье и болезнях, но и, возможно, пролить свет на коэволюции микробов и людей.

### 10.5 Бронхиальная астма в контексте микробиома

Бронхиальная астма — хроническое воспалительное заболевание, которое проявляется приступами одышки, зачастую сопровождаемой кашлем с возможностью развития приступа удушья. Хотя многие аспекты патогенеза аллергической астмы уже хорошо известны медицинскому сообществу, новые данные о микробиоме позволили взглянуть на проблему с другой стороны. Экспериментальные модели бронхиальной астмы на мышах применяются уже более 100 лет для изучения ее иммунопатологии. За последние годы было доказано, что человеческий микробиом является важным компонентом в развитии иммунной системы, в том числе была исследована роль воздействия бактерий в раннем детстве на риск появления бронхиальной астмы впоследствии.

Бактериальные виды микробиома кишечника могут быть вовлечены в развитие бронхиальной астмы. В проспективном исследовании 117 детей, разделенных на группы по прогностическому индексу развития бронхиальной астмы, в составе микробиома у детей с положительным индексом в возрасте 3 недель была обнаружена более высокая плотность *Bacteroides fragilis* и других анаэробных бактерий, чем у детей с отрицательным индексом [483]. Настолько же активно исследуется микробиом дыхательной системы в контексте бронхиальной астмы. Преобладающие бактериальные сообщества респираторного микробиома, ассоциированные с развитием бронхиальной астмы, представлены группами бактерий, не являющимися типичными доминирующими членами микробиома этой локализации [484]. Представители типа *Proteobacteria*, в частности *Haemophilus* spp., чаще идентифицируются в респираторном микробиоме пациентов с патологией дыхательной системы. Конкретные семейства бактерий, наблюдаемые чаще в респираторном микробиоме у пациентов с бронхиальной астмой, включают *Enterobacteriaceae* spp. и *Neisseriaceae* spp. [484].

В последнее время появились исследования, в которых анализируется грибковая композиция индуцированных образцов мокроты, что показало некоторые различия в видовом составе мокроты у пациентов с бронхиальной астмой и контрольной группой здоровых людей [485]. Например, грибок *Malassezia pachydermatis*,

который ранее уже ассоциировался с развитием атопического дерматита, наиболее часто встречался в образцах пациентов с бронхиальной астмой. Однако для формулировки однозначных выводов в отношении влияния грибкового сообщества на риск развития бронхиальной астмы пока не хватает объемных клинических исследований [486].

### 10.6 Атопический дерматит и микробиом

Атопический дерматит является хроническим воспалительным заболеванием кожи, особенно распространенным у детей. Многофакторный патогенез этой болезни по-прежнему характеризуется многими неотвеченными вопросами. В развитие атопического дерматита *вносят* вклад: наследственность, изменения характера врожденного и приобретенного иммунного ответа, дисфункция кожного эпителия, а также ряд факторов риска внешней среды [487]. Предполагается, что повышенная распространенность атопического дерматита в экономически развитых регионах мира обусловлена чрезмерной гигиеной, сопровождающей «западный» стиль жизни, что уменьшает образовательное воздействие микробов на иммунную систему ребенка [488,489].

Младенчество и раннее детство были определены учеными как важные и весьма уязвимые периоды становления микробиома кишечника, что и вносит вклад в склонность ребенка к атопическому дерматиту [490]. К примеру, у стерильных безмикробных лабораторных мышей отсутствует надлежащим образом развитая иммунная система, которая начинает развиваться только после заселения кишечника микроорганизмами [491]. В последнее время интерес к изучению оси «микробиом кишечника — кожа» возрос, особенно после того, как было продемонстрировано, что введение определенных микроорганизмов мышам заметно меняло их кожный фенотип [492]. Результаты наиболее значимых исследований ассоциации микробиома с атопическим дерматитом представлены далее в Таблице 11.

Таблица 11. Суммарные данные исследований ассоциации кишечного микробиома с атопическим дерматитом [493-498]

Исследование	Характеристика выборки	Методы	Выводы
Mañ и соавт., 2006	Дети с атопическими заболеваниями (n=21), контрольная группа здоровых детей (n=28)	Культуральный, FISH, 16s рРНК	<i>Bifidobacterium J</i> , <i>Clostridium J</i> . у детей с атопией
Penders и соавт., 2006	Дети с атопическими заболеваниями (n=26), контрольная группа (n=52)	секвенир. 16s рРНК	f <i>E. coli</i> у детей с атопическим дерматитом
Penders и соавт., 2007	Когорта детей с атопией (KOALA) n=957	колич. ПЦР	Колонизация <i>C. difficile</i> повышала риск аллергизации
van Nimwegen и соавт., 2011	Дети с бронхиальной астмой, атопией: 1 месяца жизни (n=1176), 1 года жизни (n=921), 2 года жизни (n=822), 6-7-го года жизни (n=384)	колич. ПЦР	Колонизация <i>C. difficile</i> в ассоциации с атопическими заболеваниями
Abrahamsson и соавт., 2012	Дети с атопическими заболеваниями (n=20), здоровые дети (n=20), в 1 неделю, 1 месяц, 12 месяцев жизни	секвенир. 16s рРНК	разнообразия микробиома и <i>Proteobacteria</i> у детей до 2 лет в ассоциации с атопическими заболеваниями
Penders и соавт. 76,2013	Когорты детей в возрасте 5 недель (n=571), 13 недель (n=332), 31 неделя (n=499)	колич ПЦР	f <i>Clostridia</i> (в 5 и 13 недель) в ассоциации с атопическим дерматитом
Nylund и соавт. 21,2015	Дети с атопическим дерматитом (n=28), здоровые дети (n=11)	секвенир. 16s рРНК	Тяжесть атопической экземы в обратной корреляции с разнообразием микробиома и плотностью продуцентов бутирата

## 10.7 Типирование микробиома в судебной медицине

Известно, что состав микробиома человека варьируется у индивидуумов, что и было предложено использовать в судебной медицине для идентификации людей в больших популяциях или с течением времени. Поразительно, что по результатам апробации математической модели, предложенной E.A. Franzosa и соавт., 80% людей могли быть однозначно идентифицированы по индивидуальному профилю кишечного микробиома вплоть до года от первичного исследования их биологического образца [15]. Более того, что касается индивидуального профиля кожного микробиома, то было выявлено, что ассоциированные с кожей человека бактерии могут быть легко восстановлены с поверхностей (включая компьютерные устройства) и что состав этих бактериальных сообществ может использоваться для определения объектов, с которыми работали конкретные люди, даже если эти объекты оставались нетронутыми до 2 недель при комнатной температуре [16].

## 11. Перспективные методы коррекции микробиома

Сегодня, когда уже накоплен определенный багаж знаний в отношении микробиома, обсуждаются несколько вариантов лечебных вмешательств. Некоторые из них уже показали эффективность *in vivo*, некоторые все еще находятся в стадии разработки. Далее мы обозначим наиболее перспективные направления микробиом-ассоциированных лечебных и профилактических вмешательств.

### 11.1 Микробные коктейли

Введение пациенту подготовленной и очищенной смеси из полезных представителей микробиома позволит достичь эффективности, а также избежать рисков трансплантации всего комплекса бактерий кишечника. Кроме того, понимая, какие конкретно представители микробиома являются наиболее опасными, можно попытаться избирательно воздействовать именно на них. Среди наиболее перспективных коктейлей отмечают так называемое «трио» полезных групп микроорганизмов:

1. *Lachnospiraceae*;
2. *Ruminococcaceae*;
3. *Bacteroidetes*.

### 11.2 Бактериальные лиганды

Введение бактериальных лигандов в случае снижения плотности и защитных функций микробиома способно предупредить развитие инфекции. Было показано, что системное введение агониста TLR-5 бактериальной природы флагеллина или пероральное введение агониста TLR-4 бактериального липополисахарида (ЛПС), восстанавливает устойчивость к инфекции, вызванной ванкомицин-резистентным энтерококком (VRE) или *C. difficile* [65-67]. Кроме того, сообщалось, что R848, синтетический агонист TLR-7/8, введенный перорально, защищает

от колонизации VRE [499]. Примечательно, что R848 уже вошел в клиническое применение, но пока только для местного лечения папилломавирусных инфекций. Таким образом, контролируемое введение микробных лигандов является важным средством для восстановления врожденного иммунитета и защиты пациентов, длительно получающих антибиотики.

### 11.3 Малые молекулы

Современные высокоэффективные математические модели скрининга новых биологически активных веществ широко используются в поисках новых антимикробных молекул. Скрининг 2 CCD бактериальных геномов, предоставленных Проектом микробиома человека (ПМЧ), позволил обнаружить биосинтетические кластеры генов, кодирующие тиопептиды, которые определяются также и в организме человека [270]. Лактоциллин, один из тиопептидов, кодируемый кластером генов *L. gasserii*, был синтезирован и продемонстрировал выраженную ингибирующую активность против распространенных патогенов, таких как *S. aureus* и *G. vaginalis*, но, что очень важно, не противодействовал росту комменсальных бактерий [270].

Более того, в процессе фармакологического скрининга малых молекул недавно был обнаружен ингибитор синтеза рибофлавина, получивший название «рибоцил», который воздействует на регуляторную некодирующую область мРНК микробного фермента синтазы. Присоединение рибоцила селективно ингибирует процессы трансляции в бактериях, например в *E. coli*, индуцируя клеточную гибель из-за дефицита рибофлавина. Было показано, что введение рибоцила значительно снижает количество бактерий в мышинной модели генерализованной инфекции *E. coli*, подтверждая тот факт, что вновь синтезированные малые молекулы имеют многообещающий потенциал как антимикробные лекарственные средства [500].

Признание повреждающего воздействия антибиотиков на состав и плотность микробиома привело ученых к поиску бактерицидных соединений более направленного действия. Например, было показано, что турицин-CD, бактериоцин, продуцируемый *Bacillus thuringiensis*, равен по эффективности ванкомицину или метронидазолу в отношении *S. difficile*, однако не повреждает кишечную микробиоту, в отличие от обозначенных антибиотиков [501]. Другими исследователями сообщалось, что бактериоцин авидоцин-CD, созданный для селективного воздействия на клинически значимый штамм *S. difficile* BI/NAP1/027, привел к исчезновению этого патогена при пероральном введении. Кроме того, авидоцин-CD, в отличие от антибиотиков, не снижал защитную способность микробиоты противостоять колонизации [502].

### 11.4 Таргетная антибактериальная терапия

В недавно опубликованном исследовании авторы смогли объединить химическим путем аналог антибиотика рифампицина (т.н. рифалог) и специфического антитела против золотистого стафилококка (*S. aureus*), чтобы таргетно воздействовать на внутриклеточные формы метициллин-резистентного *S. aureus* (MRSA).

Действительно, внутриклеточная среда представляет собой важный резервуар для этих патогенов, что еще и защищает MRSA от действия антибиотиков. Например, в эксперименте было показано, что лабораторные мыши, зараженные инфицированными MRSA клетками, в сравнении с инфицированием свободными внеклеточными бактериями, отличаются более тяжелым протеканием инфекций, даже несмотря на лечение ванкомицином [503]. В этом исследовании рифалог был конъюгирован с *S. aureus*-специфическим антителом с помощью расщепляемой связи, так что микроб после опсонизации и фагоцитоза подвергался избирательному повреждающему воздействию антибиотика, высвобожденного из этой связи ферментом протеаза. Важно отметить, что комплекс «антитело-рифалог» был более эффективным, чем антибиотики по отдельности в борьбе с инфекцией *in vivo*. Итак, такой подход может быть в будущем высокорезультативным в борьбе со многими внутриклеточными патогенами.

### 11.5 CRISPR-Cas9 методы генной инженерии

Сегодня использование методик CRISPR-Cas9 для направленного редактирования геномов является перспективным направлением в современной генной инженерии. CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) — особые участки бактериальной ДНК, короткие палиндромные кластерные повторы. Между этим идентичными повторами располагаются отличающиеся друг от друга фрагменты ДНК — спейсеры, многие из которых соответствуют участкам геномов вирусов, паразитирующих на данной бактерии. При попадании вируса в бактериальную клетку он обнаруживается с помощью специализированных Cas-белков (CRISPR-associated sequence), связанных с РНК CRISPR. Если фрагмент вируса соответствует коду в спейсере РНК CRISPR, то Cas-белки разрезают вирусную ДНК и уничтожают ее, защищая таким образом клетку от инфекции. Не так давно было установлено, что системы CRISPR-Cas могут работать не только в клетках бактерий, но и в клетках высших организмов, соответственно, CRISPR-Cas-системы дают возможность исправлять неправильные последовательности генов человека и лечить наследственные заболевания.

Cas9 — это фермент эндонуклеаза, связанный с адаптивной иммунной системой CRISPR у ряда бактерий, например у *Streptococcus pyogenes*. Недавно была предложена стратегия устранения выбранных бактериальных клеток, использующих систему CRISPR-Cas9. По сути CRISPR-Cas9 представляет собой иммунную систему бактерий, которая может быть модифицирована методами молекулярной генетики для расщепления интересующих последовательностей ДНК. Исследователи разработали доставку генетического материала в бактериальную клетку с помощью фагов (фагемидов), что привело к эффективному уничтожению выбранных бактерий [504,505]. Поразительно, что в бактериальном сообществе, состоящем из 2-3 изолятов бактерий одного вида (*E. coli* или *S. aureus*), фагемиды CRISPR-Cas9 уничтожали только бактерии, несущие целевой ген, сохраняя окружающие микроорганизмы в моделях *in vivo*. Таким образом, эта генно-инженерная



система позволила выборочно уничтожать патогены, в т.ч. устойчивые к антибиотикам, при этом не влияя на окружающий микробиом [25].

## 12. Перспективы изучения микобиома и вирома человека

На сегодняшний день бактериальный микробиом изучен достаточно глубоко, однако гораздо меньше нам известно о микобиоме и виrome. Как и бактерии, грибы и вирусы, очевидно, весьма разнообразны в кишечнике, и уже есть данные о том, что они также вступают во взаимодействие с иммунитетом хозяина [506-510]. При этом все еще не ясно, какие функции грибы и вирусы выполняют в поддержании гомеостаза хозяина и насколько они важны для здоровья человека. В некоторых более ранних исследованиях уже были изучены микобиомы и виromы у пациентов с иммуносупрессией и обсуждалась их роль в ассоциации с противовирусной терапией и глубиной нарушений иммунитета [506,511,512]. Вероятно, на данном этапе уже стоит активизировать исследование сообществ вирусов и грибов, проживающих в организме человека, в особенности у пациентов со сниженным иммунитетом. Изучение этих групп может быть особенно полезно для понимания и оценки роли микобиома и вирома, а также ассоциированных с ними рисков.

## 13. Краткий конспект клинициста

Здоровый и разнообразный микробиом приносит пользу хозяину с помощью ряда важных процессов. Комменсальные бактерии помогают с перевариванием и использованием питательных веществ, предотвращают развитие инфекций, усиливают и регулируют функции иммунной системы. Нарушения микробиома связаны с различными заболеваниями, включая инфекции, аутоиммунные заболевания, воспалительные заболевания кишечника, сахарный диабет, аллергические заболевания, ожирение и атеросклероз.

Многие применяемые антибиотики отрицательно воздействуют на полезных представителей микробиома, что ставит пациентов под угрозу развития ряда заболеваний. К ним относятся инфекции, возникающие на фоне колонизации пациентов антибиотикорезистентными патогенами, например: ванкомицин-резистентными энтерококками, метициллин-резистентным золотистым стафилококком и чрезвычайно резистентными энтеробактериями. Понимая и признавая влияние антибиотиков на здоровый микробиом человека, врачам стоит более ответственно относиться к назначению этих лекарственных средств. Потенциальные стратегии предотвращения неблагоприятного воздействия антибиотиков на микробиом включают: снижение необоснованного назначения антибиотиков, разработку и внедрение антибиотиков с наиболее узким спектром действия, раннюю деэскалацию антибактериальной терапии, трансплантацию фекальной микробиоты (ТФМ).

В будущем, возможно, в клиническую практику будут внедрены методы воздействия на микробиом пациентов с конкретными целями, как, например, профилактика атеросклероза или оптимизация ответа на лечение рака. Это может быть

достигнуто в клинических условиях посредством таких вмешательств, как специализированные диеты, введение полезных микробных сообществ и индивидуализированная антибактериальная терапия. Уже сегодня разрабатываются новые стратегии, которые меняют классическую антибиотикотерапию и целью которых является избирательное уничтожение возбудителей инфекций без повреждения остального микробиома или даже восстановление полезных микробных сообществ человека.

#### **14. Актуальные вопросы и ответы по теме микробиома человека**

*А. Какие физиологические процессы в организме человека связаны с микробиомом?*

Исследования показывают, что практически все типы клеток в теле человека так или иначе связаны с комменсальными микробами. Даже физиология таких органов, как мозг или легкие, зависит от состава кишечного микробиома. Более глубокое понимание сети взаимодействий между хозяином и комменсалами в различных органах и тканях смогло бы обеспечить медицине цели для терапевтических вмешательств в случае многих болезней.

*Б. Можно ли вылечить заболевание путем воздействия на микробные сообщества пациента?*

Избранные представители микробиома связаны с различными заболеваниями, например атеросклерозом и раком. Это открывает путь для революционных внедрений в медицине, когда в будущем точечная антимикробная терапия против конкретных представителей микробиома поможет предотвратить или излечить многие заболевания.

*В. Какие инфекционные заболевания можно лечить и предотвращать с помощью микробиома?*

В настоящее время *C. difficile*-ассоциированная инфекция успешно лечится с помощью трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ). Однако передача такого биологического материала или же отдельных бактериальных сообществ может быть эффективна и против других кишечных инфекций. Мы прогнозируем, что в ближайшие годы будут предложены новые микробные кандидаты для борьбы с инфекционными угрозами.

*Г. Какие существуют ограничения в плане искусственного заселения микробиома человека полезными комменсальными бактериями?*

Метаболические и тканевые предпочтения конкретных видов комменсальных бактерий до конца пока все еще не ясны. Понимание того, какие окружающие микробные сообщества и свободные молекулы способствуют росту и развитию полезных функций выбранных штаммов комменсала, поможет в дальнейшем в разработке более эффективных методов лечения на основе переноса частей микробиома.

Таксономические типы

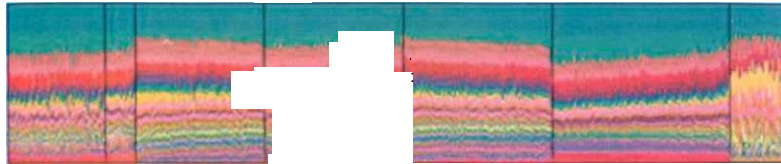
И»!

fWrv\*! ^ r

Р. jjit ИШР Hd

- Firmicutes
- Actinobacteria
- Bacteroidetes
- Proteobacteria
- Fusobacteria
- Tenericutes
- Spirochaetes
- Cyanobacteria
- Verrucomicrobia
- Tm7

Метаболические пути



Передняя область носдрей    Ретроаурикулярная складка и слизистая щки    Супрагингивальная область    Фекальный материал    Задний свод влагалища

- Центральный путь метаболизма углеводов
- Биосинтез витаминов и ко-факторов
- Транспортные системы олигосахаридов и многоатомных спиртов
- Метаболизм пуриновых оснований
- Синтез АТФ
- Транспортные системы фосфатов и аминокислот
- Аминоацил-тРНК
- Метаболизм пиримидиновых оснований
- Рибосомы
- Метаболизм ароматических аминокислот

Рис. 1. Состав микробиома человека (вверху) и активность метаболических путей (внизу) в зависимости от анатомической локализации по данным Проекта микробиома человека [6].

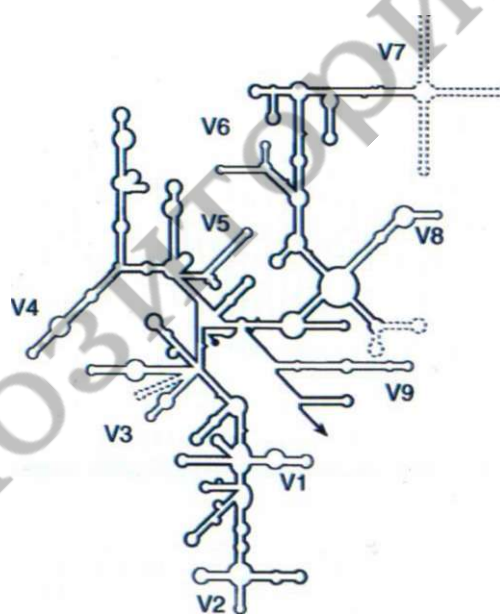


Рис. 2. Схематическая структура прокариотической 16S рРНК. Регионы, в которых последовательность нуклеотидных оснований наиболее вариабельна, обозначены V1-V9 (адаптировано автором из J.M. Neefs и соавт. [19])



Рис. 3. Инстинкт употребления экскрементов матери новорожденными жеребятами

Firmicutes                      Proteobacteria                      Actinobacteria                      Bacteroidetes

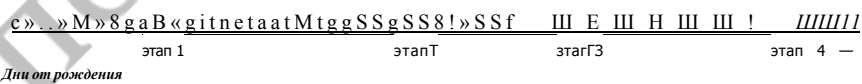
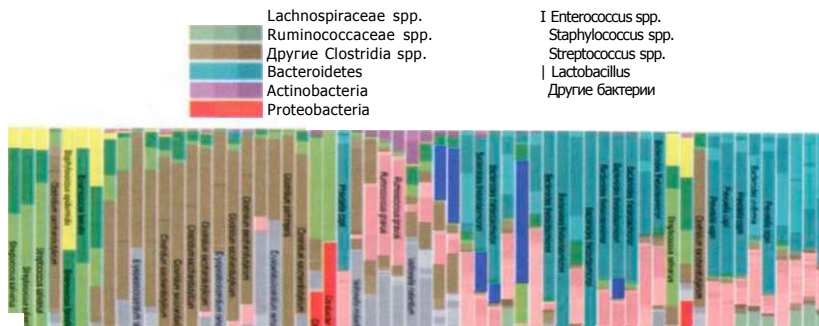


Рис 4. Состав микробиома кишечника в динамике у ребенка: анализ микробиома на уровне таксономических типов микроорганизмов (адаптировано автором из Koenig JE и соавт. [62])



II CEIL... iil .IIII.I .!i% -; :iil1'!!!I

Дни от рождения

Рис 5. Состав микробиома кишечника в динамике у ребенка: анализ микробиома на уровне семейств микроорганизмов (адаптировано из Y. Taig из Koenig JE и соавт. [62])

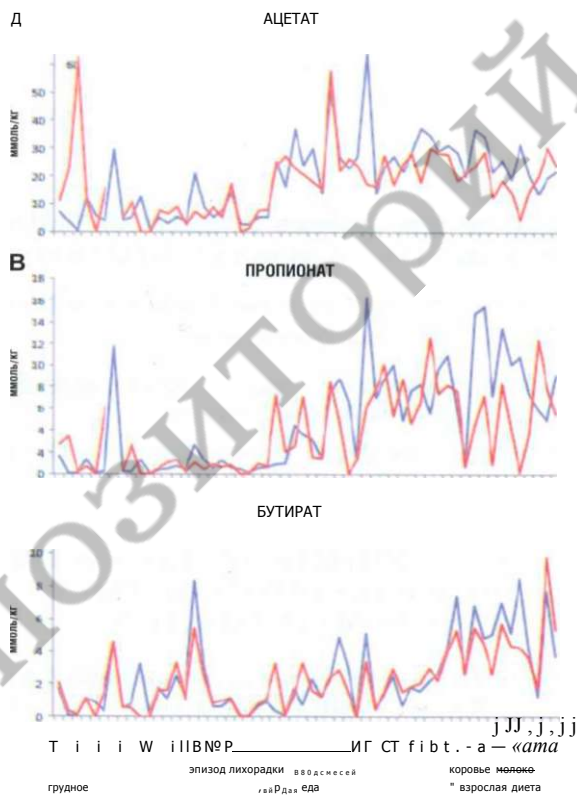
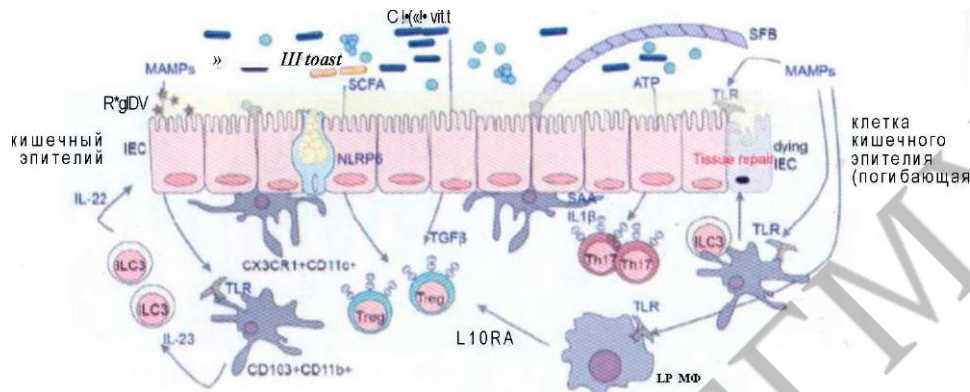


Рис.6. Динамика концентрации короткоцепочечных жирных кислот в кишечнике в период созревания микробиома у ребенка (адаптировано автором из Koenig JE и соавт. [62])



SCFA - короткоцепочечные жирные кислоты; TLR - Толл-подобные рецепторы; Treg - регуляторные Т-лимфоциты; RegIII - антибактериальный лектин; MAMPs - микроб-ассоциированные молекулярные сигналы, т.е. молекулы, группы бактерий, которые распознаются клетками иммунной системы; IL - интерлейкины; tissue repair - тканевое восстановление в кишечнике; RA - ретиноевая кислота; IEC (dying) - клетка кишечного эпителия (погибающая); SFB - иммуностимулирующая сегментированная филаментная бактерия; ATP - аденозинтрифосфат; ИСЗ-лимфоидные клетки врождённого иммунитета; Th17 - Т-хелперы 17 типа; SAA-сывороточный амилоид А; TGF-трансформирующий ростовой фактор; CD-кластер дифференцировки; NLRP - Nod-подобные рецепторы.

Рис. 7. Микробиота в роли регулятора иммунной системы хозяина (адаптировано из Becattini и соавт. [25])

## RESISTANCE OF THE MOUSE'S INTESTINAL TRACT TO EXPERIMENTAL SALMONELLA INFECTION

### I. FACTORS WHICH AFFECT THE INITIATION OF INFECTION BY ORAL INOCULATION\*

BY MARJORIE BOHNHOFF, C, PHILLIP MILLER, M.D., AND WILLIAM R. MARTIN\* PH.D.

(From the Departments of Medicine\* and Microbiology, University of Chicago, Chicago)

(Received for publication, July 2, 1944)

### THE EFFECT OF AN ANTIBIOTIC ON THE SUSCEPTIBILITY OF THE MOUSE'S INTESTINAL TRACT TO SALMONELLA INFECTION

BY C. PHILLIP MILLER, MD (by invitation) MARJORIE BOHNHOFF, MA, and DAVID RIFKIND, PHD

Ctneafo

Рис. 8. Первые опубликованные в англоязычной научной литературе экспериментальные работы на тему защитных функций микробиоты человека (Journal of experimental medicine (1964); Transactions of the American Clinical and Climatological Association (1957)) [77,78]



Рис. 9. Ингибирование роста *C. difficile* с помощью процесса микробиом-ассоциированной трансформации желчных кислот (адаптировано из Taur Y., Pamer E.G. [89])

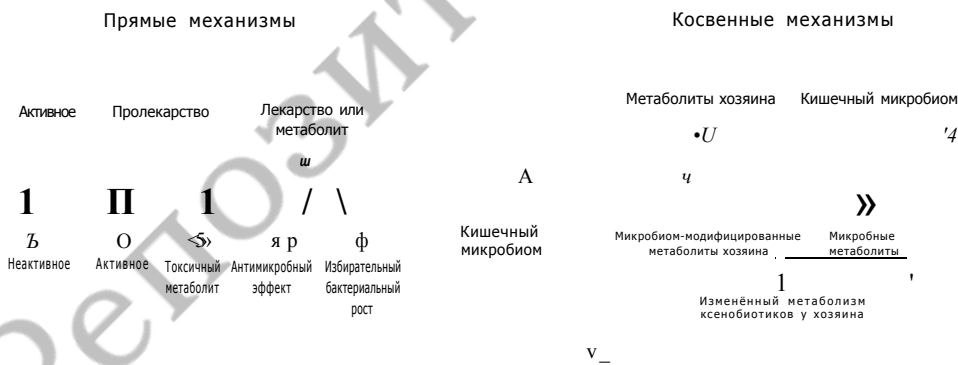


Рис. 10. Механизмы микробиом-ассоциированного метаболизма лекарств (адаптировано из Spannogiapopoulos и соавт. [111])

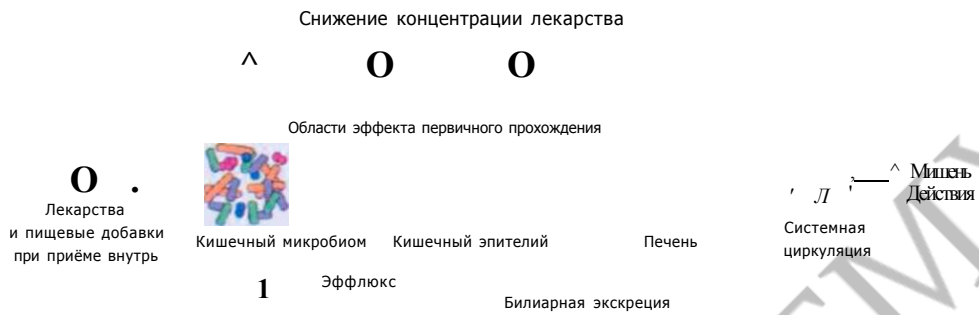


Рис. 11. Фармакокинетические механизмы влияния микробиома на метаболизм лекарств (адаптировано из Spanogiannopoulos и соавт. [111])

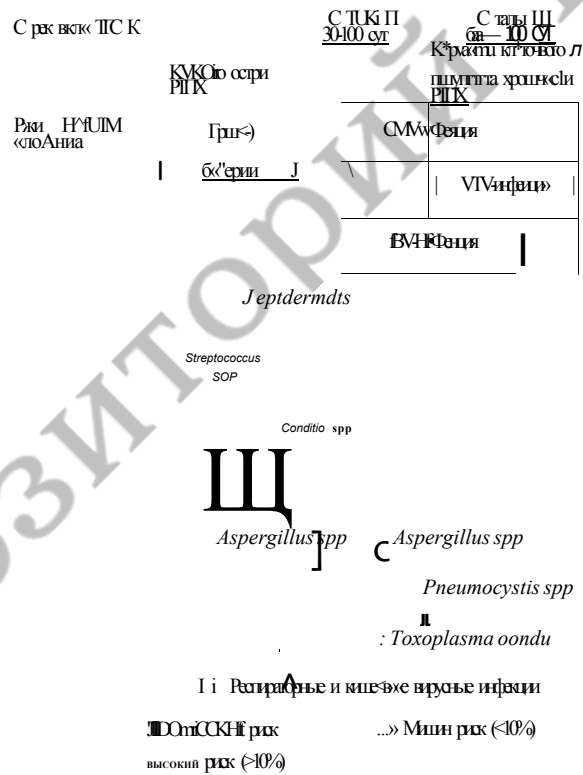


Рис. 12. Временные периоды вероятного развития инфекционных осложнений у пациентов при ТГСК (схема автора)



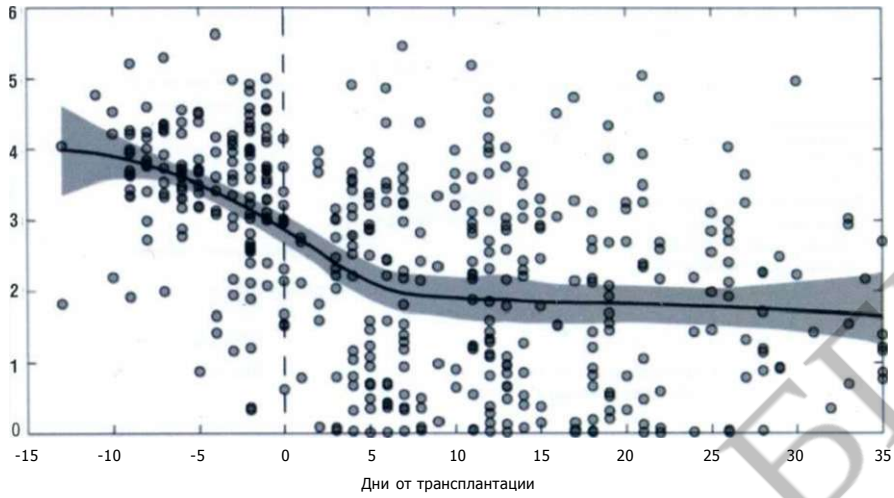


Рис. 13. Изменения в разнообразии в кишечного микробиома при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Индекс Шеннона представлен для каждого биологического образца пациентов и рассчитан от дня 0 (трансплантации) (данные У. Тауг и соавт. [20])

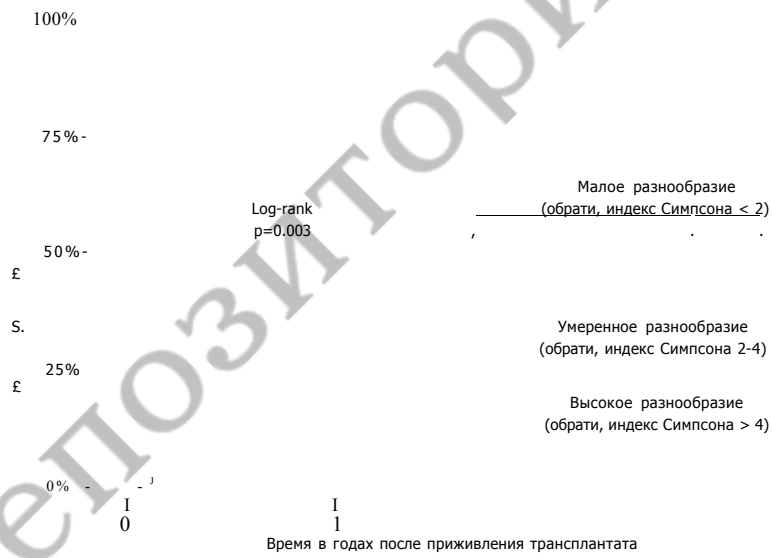


Рис. 14. Влияние разнообразия кишечного микробиома на трансплантат-ассоциированную летальность после аллогенной ТГСК (по результатам У. Тауг и E.G. Pateng с соавт. [168])

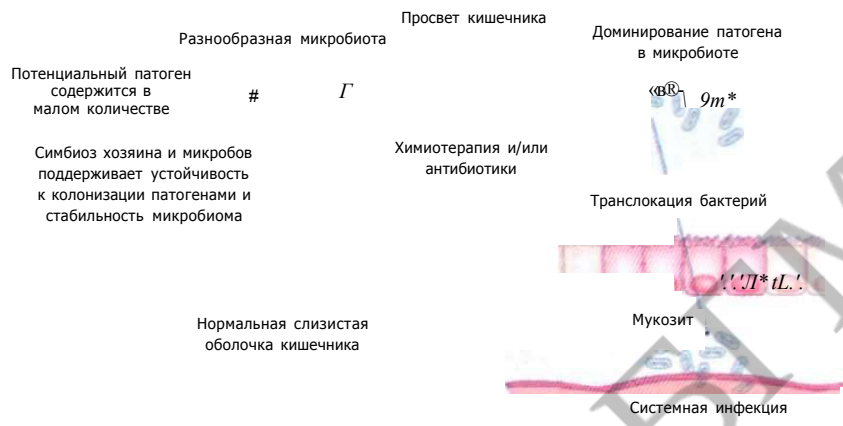


Рис. 15. Повреждение микробиоты и барьера стенки кишечника в патогенезе сепсиса (адаптировано из Y. Taur и E.G. Pamer [169])

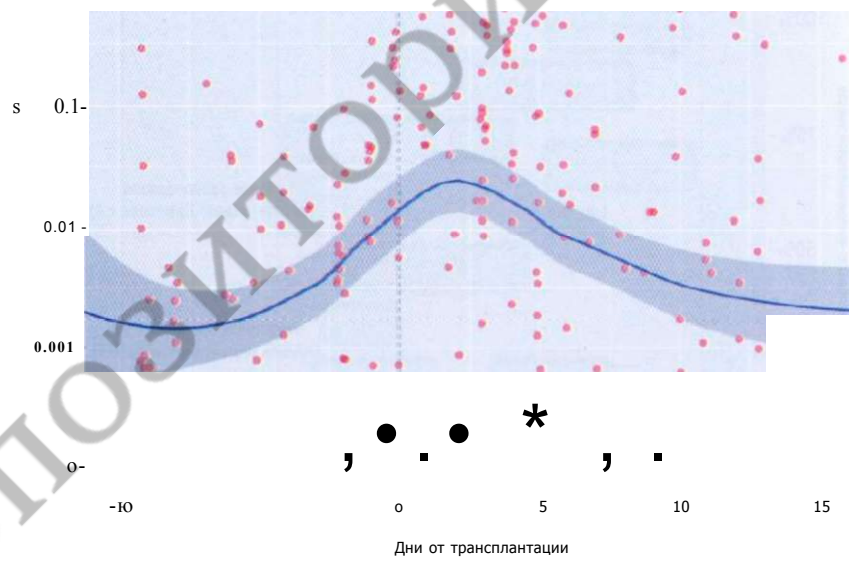


Рис. 16. Динамика относительной плотности грамотрицательных бактерий в кишечнике у пациентов при аллогенной ТГСК: день 0 - день выполнения трансплантации (данные автора, получены совместно с E.G. Pamer, Y. Taur, E.R. Littmann, на базе Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга, Нью-Йорк, США)

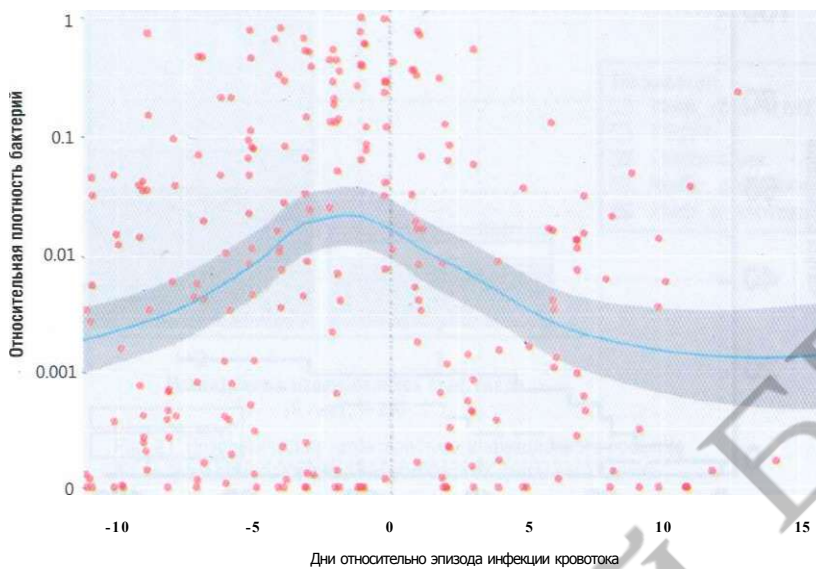


Рис. 17. Динамика относительной плотности грамотрицательных бактерий в кишечнике у пациентов при аллогенной ТГСК: день 0 - первый день эпизода грамотрицательной инфекции кровотока (данные автора, получены совместно с E.G. Pamer, Y. Taur, E.R. Littmann на базе Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга. Нью-Йорк, США)

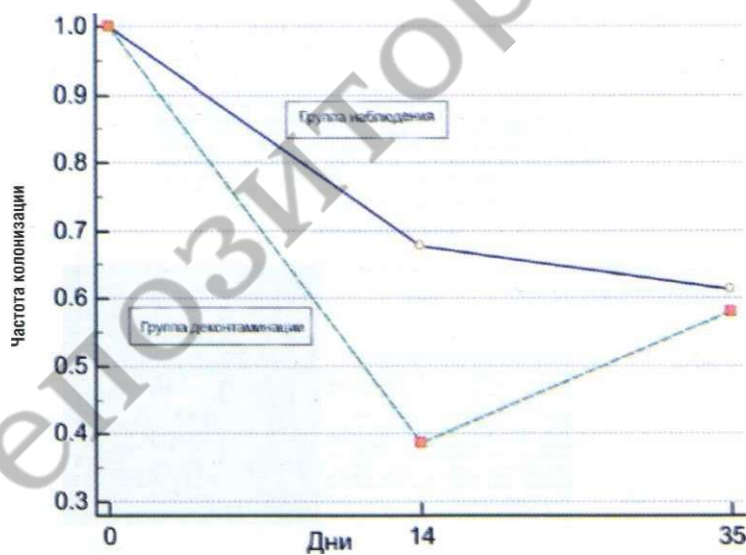


Рис. 18. Частота положительной ректальной колонизации MDR/XDR грамотрицательными патогенами в исследовании в группах деконтаминации и наблюдения

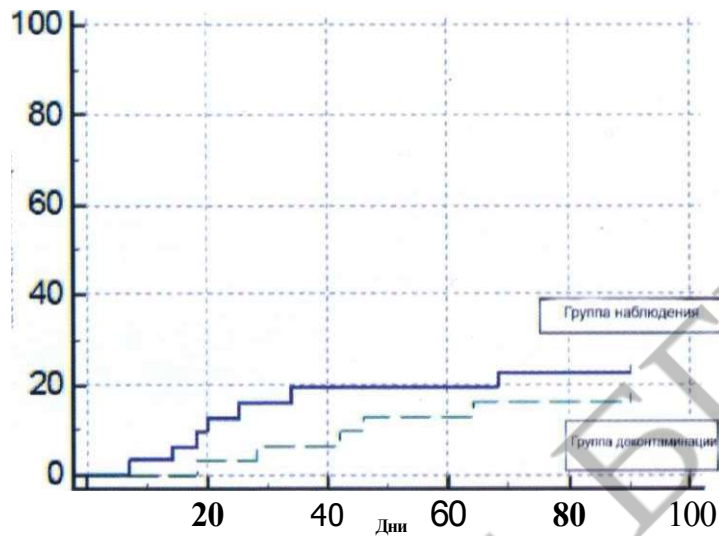


Рис. 19. Вероятность развития бактериального инфекционного эпизода в течение 90 дней после селективной кишечной деконтаминации

### TREATMENT OF ACUTE BACTERIAL INFECTIONS IN PROTECTIVE ENVIRONMENT UNITS

(Gerald P. Bodey, M.D., Donald Armstrong, M.D., and J. M. M. J. Hill, M.D.)

It is well known that patients who are hospitalized in protective environment units are at high risk of developing bacterial infections. This risk is due to the fact that these patients are often immunocompromised and are exposed to a high density of bacteria in their environment. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of selective decontamination in reducing the risk of bacterial infection in these patients. The study included 100 patients who were hospitalized in protective environment units. The patients were divided into two groups: a control group and a decontamination group. The decontamination group received selective decontamination of the gut, nose, and mouth. The results of the study showed that the decontamination group had a significantly lower risk of bacterial infection compared to the control group.

1979, 44:1491-1494

Do Not Offer Mucosal Protection to Patients in Protective Environment Units

An observation that is generally not a patient who is hospitalized in protective environment units is that they are at high risk of developing bacterial infections. This risk is due to the fact that these patients are often immunocompromised and are exposed to a high density of bacteria in their environment. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of selective decontamination in reducing the risk of bacterial infection in these patients. The study included 100 patients who were hospitalized in protective environment units. The patients were divided into two groups: a control group and a decontamination group. The decontamination group received selective decontamination of the gut, nose, and mouth. The results of the study showed that the decontamination group had a significantly lower risk of bacterial infection compared to the control group.

(// // // // //)

111111

\*

Рис. 20. Дискуссия о целесообразности внедрения защитных сред: Gerald P. Bodey против Donald Armstrong [220-222]

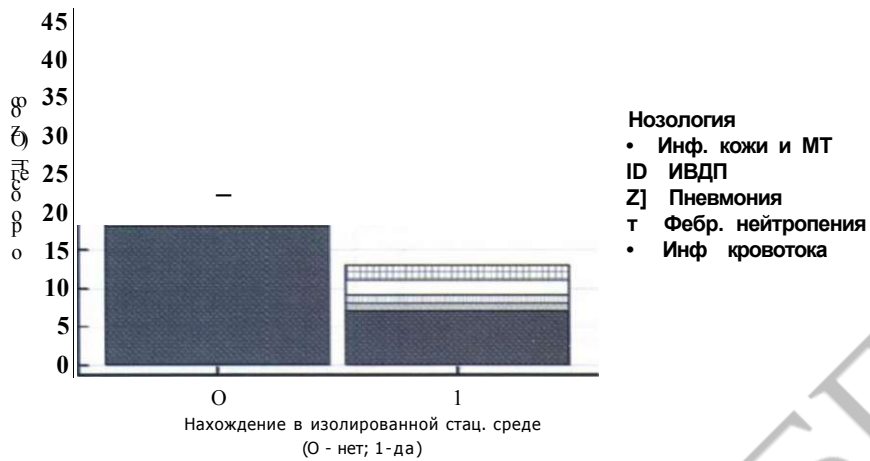


Рис. 21. Нозологические характеристики инфекционного процесса на фоне химиотерапии в зависимости от среды нахождения

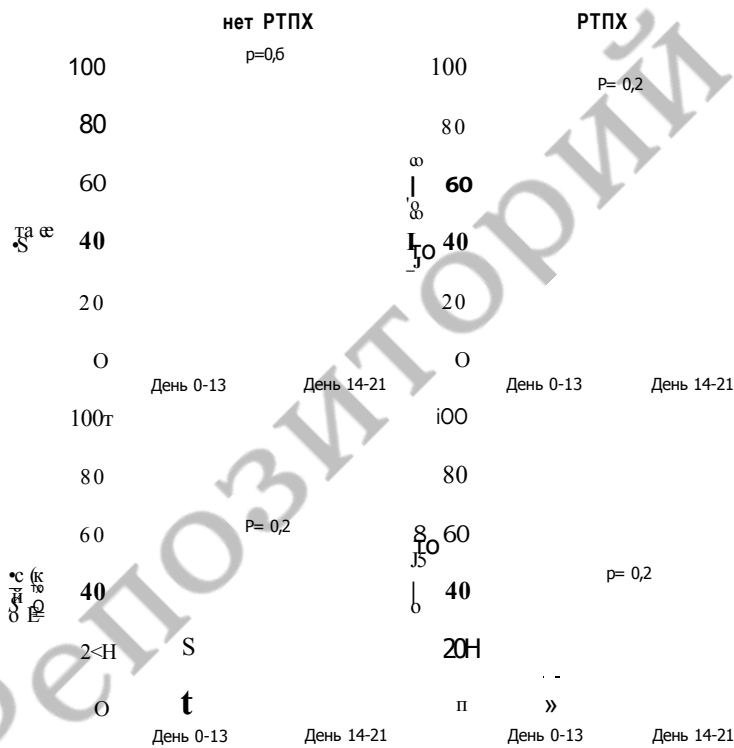


Рис 22. Ассоциация кишечной формы РТПХ с потерей плотности представителей Clostridiales (внизу) и увеличением плотности Lactobacillales (вверху) (адаптировано из R.R. Jenq и соавт. [232])

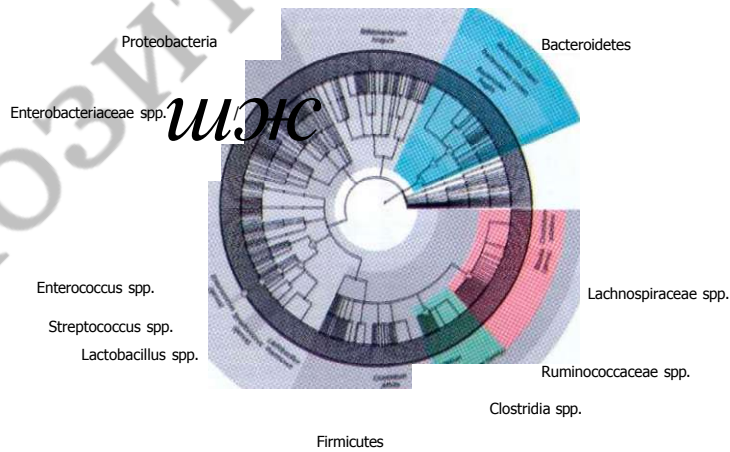
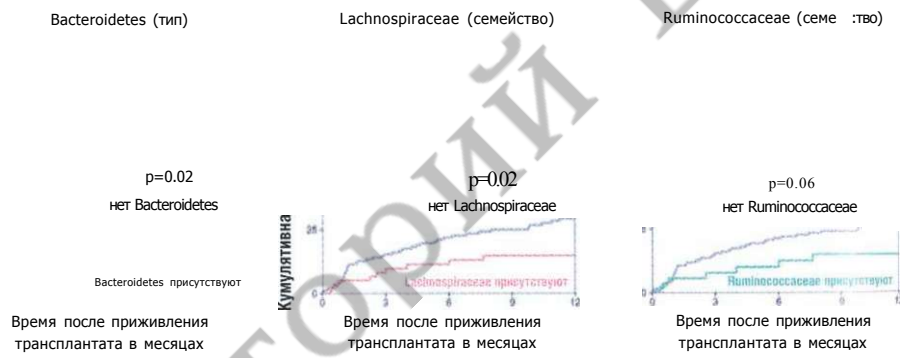
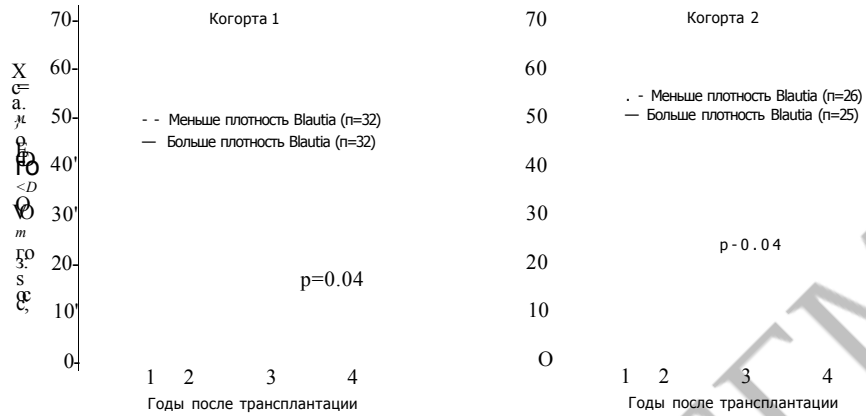


Рис. 24. Три защитных представителя микробиома человека против *C. difficile*-ассоциированной инфекции (адаптировано из J.Y. Lee и соавт. [252])

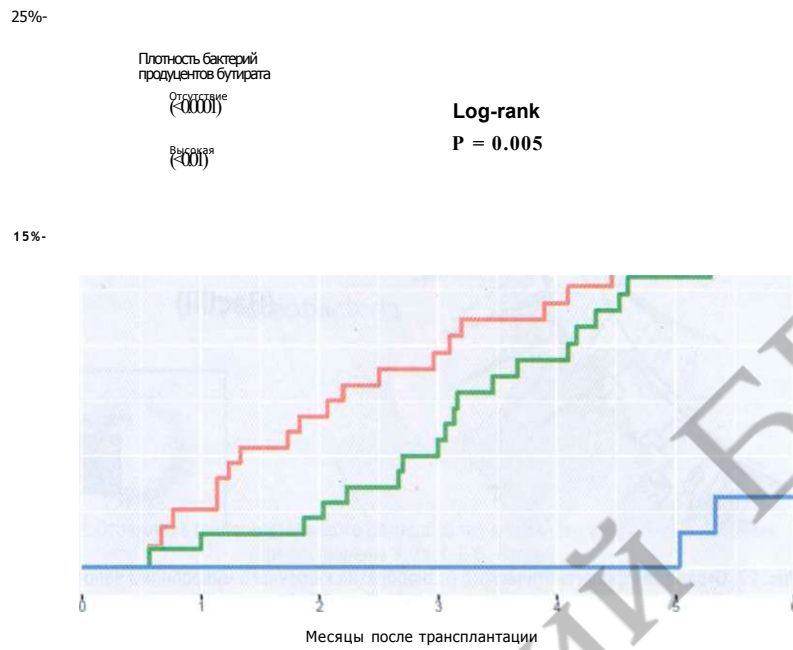


Рис. 25. Высокое содержание в микробиоме бактерий, продуцирующих бутират, снижает риск развития вирусных инфекций нижних дыхательных путей после аллогенной ТГСК (адаптировано из Naak B.W. и соавт. [339])

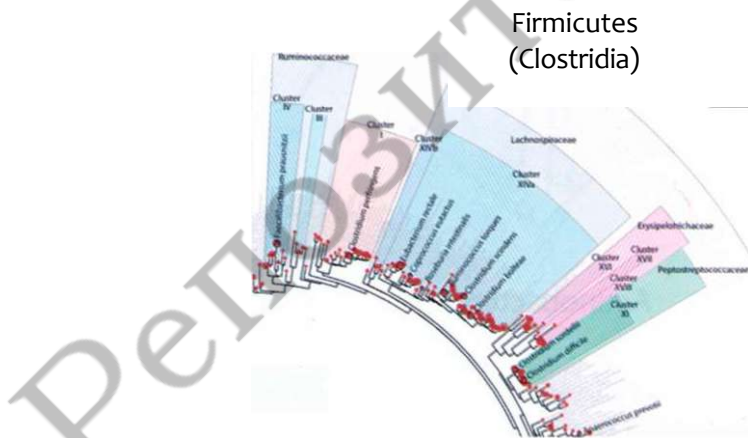


Рис. 26. Отражение филогенетического разнообразия кишечного микробиома человека (предоставлены Y. Taur, E.G. Pamer)

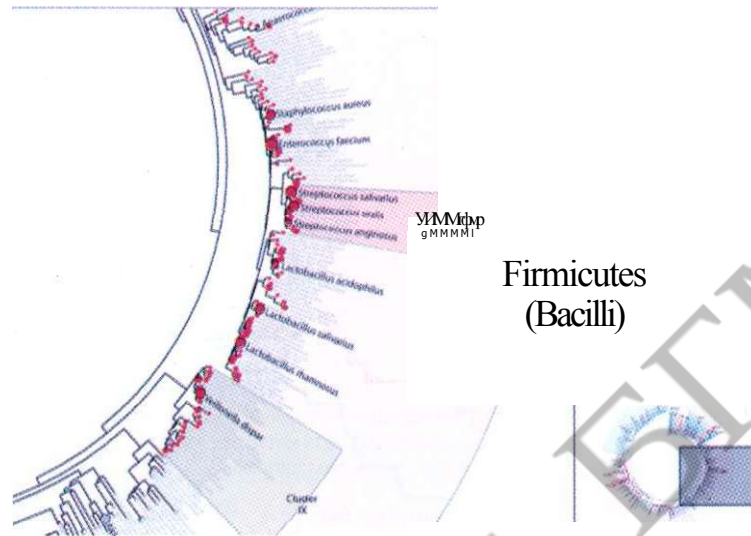


Рис. 27. Отражение филогенетического разнообразия кишечного микробиома человека (данные предоставлены Y. Taur, E.G. Pamer)

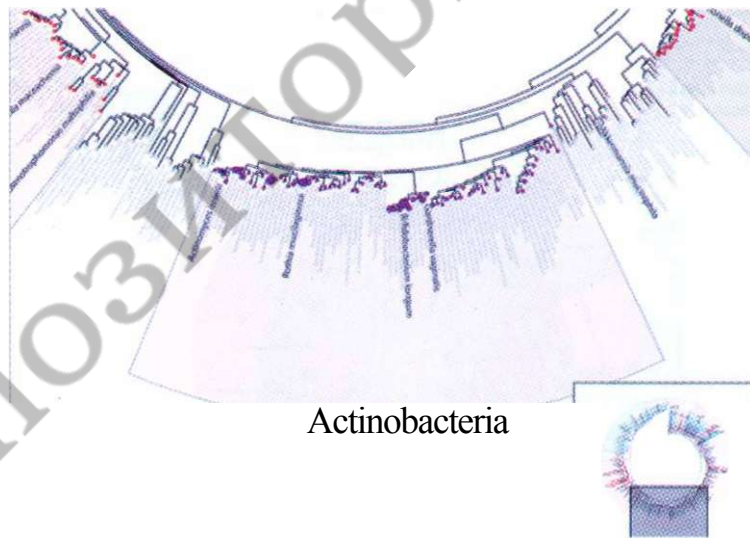


Рис. 28. Отражение филогенетического разнообразия кишечного микробиома человека (данные предоставлены Y. Taur, E.G. Pamer)



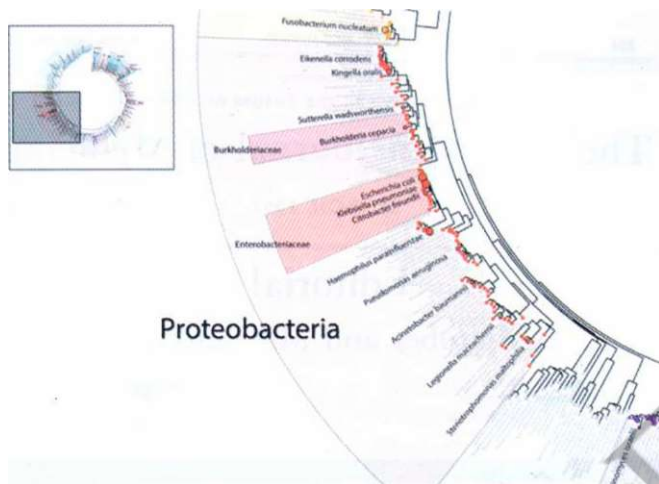


Рис.29. Отражение филогенетического разнообразия кишечного микробиома человека (предоставлены Y. Taur, E.G. Pamer)

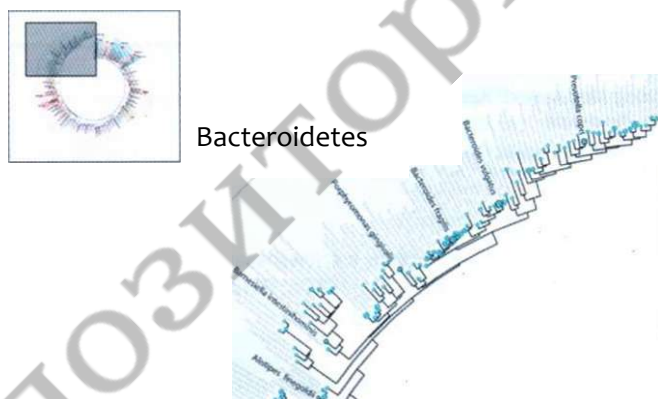


Рис. 30. Отражение филогенетического разнообразия кишечного микробиома человека, (предоставлены Y. Taur, E.G. Pamer)

Hi

TUB HOSPITAL.

кктя 1, 1К».

M. METCHNIKOFF ON THE FUTURE OF MAN.

## The American Journal of Medicine

Vol-XII

MARCH, 1952

№ 3

### Editorial

Microbes and Metchnikoff

Gut Pathogens

Open Access

### Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: Part I - autointoxication revisited

Aisior C 6aeaf \*an C Uxj»- " and Ы MSfbjb"



Brain, Behavior, and Immuniry

Revr<tr>g Metchnikoff: Age-related alterations IT rmcrobiota gut brain wis in the mouse

кїтїтї А. ісmU-JRJO' KU^ YNN U L WRRWI". (JR«A HRRMLC' ORTND H UOWERR  
1ґама". fchspfey". Аму Мигдо'. tCa l Bos»\*. CM hгw Чмш". Тп»<<>> С Лож\*".  
tohaf.ti\*»"

Рис. 31. Илья Ильич Мечников: роль в исследовании микробиома в XX-XXI веках;  
4 работы: 1903 г., 1952 г., 2013 г., 2017 г.

## Приложение

Таблица А. Лекарства с доказанным микробиом-ассоциированным метаболизмом [111]

### Микробный метаболизм посредством восстановления

5-Фторурацил	Неопронтозил
Балсалазид	Нитразепам
Левомецетин	Низатидин
Клоназепам	Олсалазин
Кофеин	Омепразол
Дигоксин	Пронтозил
Элтромбопаг	Ранитидин
Нитроглицерин	Рисперидон
Индицин-Н-оксид	Сульфасалазин
Леводопа	Сульфинпиразон
Лоперамид	Сулиндак
Метамфетамин	Зонисамид
Метронидазол	Холин

### Микробный метаболизм посредством гидролиза

Азетирелин	Кетопрофен
Бензилпенициллин	Левамизол
Кальцитонин	Ловастатин
Левомецетин	Метотрексат
Диклофенак	Морфин
Глицирризин	Фенацетин
Индометацин	Натрия пикосульфат
Инсулин	Соривудин
Изосорбида динитрат	Сукцинил сульфатиазол

### Микробный метаболизм посредством ацилирования

5-аминосалициловая кислота (месалазин)  
Сульфидин

### Микробный метаболизм посредством окисления

Флуцитозин

### Библиография:

1. Qin, J. et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing / J. Qin et al. // *Nature*. - 2010. - Vol. 464, № 7285. - P. 59-65.
2. Buffie, C.G. & Pamer, E.G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens / C.G. Buffie, E.G. Pamer // *Nature Reviews, immunology*. - 2013. - Vol. 13, № 11. - P. 790-801.
3. Walter, J. & Ley, R. The human gut microbiome: ecology and recent evolutionary changes / J. Walter, R. Ley // *Annual Review of Microbiology*. - 2011. - Vol. 65, - P. 411-429.
4. Brestoff, J.R. & Artis, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system / J.R. Brestoff, D. Artis // *Nature Immunology* - 2013. - Vol. 14, № 7. - P. 676-684.
5. Lozupone, C. A. et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota / C. A. Lozupone et al. // *Nature*. - 2012. - Vol. 489, № 7415. - P. 220-230.
6. Human Microbiome Project Consortium Structure, function and diversity of the healthy human microbiome / Human Microbiome Project Consortium // *Nature*. - 2012. - Vol. 486, № 7402. - P. 207-214.
7. Kurokawa, K. et al. Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes / K. Kurokawa et al. // *DNA research: an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes*. - 2007. - Vol. 14, № 4. - P. 169-181.
8. Gill, S.R. et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome / S.R. Gill et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2006. - Vol. 312, № 5778. - P. 1355-1359.
9. Thaiss, C.A. et al. Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis / C.A. Thaiss et al. // *Cell*. - 2014. - Vol. 159, № 3. - P. 514-529.
10. Diaz Heijtz, R. et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior / R. Diaz Heijtz et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2011. - Vol. 108, № 7. - P. 3047-3052.
11. Hsiao, E.Y. et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders / E.Y. Hsiao et al. // *Cell*. - 2013. - Vol. 155, № 7. - P. 1451-1463.
12. Foster, J.A. & McVey Neufeld, K.-A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression / J.A. Foster, K.-A. McVey Neufeld // *Trends in Neurosciences*. - 2013. - Vol. 36, № 5. - P. 305-312.
13. Kostic, A.D. et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment / A.D. Kostic et al. // *Cell Host & Microbe*. - 2013. - Vol. 14, № 2. - P. 207-215.
14. Arthur, J.C. et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota / J.C. Arthur et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2012. - Vol. 338, № 6103. - P. 120-123.
15. Franzosa, E.A. et al. Identifying personal microbiomes using metagenomic codes / E.A. Franzosa et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2015. - Vol. 112, № 22. - P. E2930-2938.
16. Fierer, N. et al. Forensic identification using skin bacterial communities / N. Fierer et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2010. - Vol. 107, № 14. - P. 6477-6481.
17. Roopchand, D.E. et al. Dietary Polyphenols Promote Growth of the Gut Bacterium *Akkermansia muciniphila* and Attenuate High-Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome / D.E. Roopchand et al. // *Diabetes*. - 2015. - Vol. 64, № 8. - P. 2847-2858.
18. Liou, A.P. et al. Conserved shifts in the gut microbiota due to gastric bypass reduce host weight and adiposity / A.P. Liou et al. // *Science Translational Medicine*. - 2013. - Vol. 5, № 178. - P. 178ra41.
19. Neefs, J.M. et al. Compilation of small ribosomal subunit RNA structures / J.M. Neefs et al. // *Nucleic Acids Research*. - 1993. - Vol. 21, № 13. - P. 3025-3049.
20. Taur, Y. et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Y. Taur et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2012. - Vol. 55, № 7. - P. 905-914.

21. Nguyen, T.L.A. et al. How informative is the mouse for human gut microbiota research? / T.L.A. Nguyen et al. // *Disease Models & Mechanisms*. - 2015. - Vol. 8, № 1. - P. 1-16.
22. Zhang, X. et al. MetaPro-IQ: a universal metaproteomic approach to studying human and mouse gut microbiota / X. Zhang et al. // *Microbiome*. - 2016. - Vol. 4,
23. Xiao, L. et al. High-fat feeding rather than obesity drives taxonomical and functional changes in the gut microbiota in mice / L. Xiao et al. // *Microbiome*. - 2017. - Vol. 5,
24. Seedorf, H. et al. Bacteria from diverse habitats colonize and compete in the mouse gut / H. Seedorf et al. // *Cell*. - 2014. - Vol. 159, № 2. - P. 253-266.
25. Becattini, S. Taur, Y. & Pamer, E.G. Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease / S. Becattini, Y. Taur, E.G. Pamer // *Trends in Molecular Medicine*. - 2016. - Vol. 22, № 6. - P. 458-478.
26. Ridaura, V.K. et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice / V.K. Ridaura et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2013. - Vol. 341, № 6150. - P. 1241-1244.
27. Kau, A.X. et al. Functional characterization of IgA-targeted bacterial taxa from malnourished Malawian children that produce diet-dependent enteropathy / A.L. Kau et al. // *Science translational medicine*. - 2015. - Vol. 7, № 276. - P. 276ra24.
28. Blanton, L.V. et al. Gut bacteria that rescue growth impairments transmitted by immature microbiota from undernourished children / L.V. Blanton et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2016. - Vol. 351, № 6275.
29. Rajilic-Stojanovic, M. & de Vos, W.M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota / M. Rajilic-Stojanovic, W.M. de Vos // *FEMS microbiology reviews*. - 2014. - Vol. 38, № 5. - P. 996-1047.
30. Tap, J. et al. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core / J. Tap et al. // *Environmental Microbiology*. - 2009. - Vol. 11, № 10. - P. 2574-2584.
31. Levy, M. et al. Microbiota-Modulated Metabolites Shape the Intestinal Microenvironment by Regulating NLRP6 Inflammasome Signaling / M. Levy et al. // *Cell*. - 2015. - Vol. 163, № 6. - P. 1428-1443.
32. Smith, P.M. et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis / P.M. Smith et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2013. - Vol. 341, № 6145. - P. 569-573.
33. Mazmanian, S.K. & Kasper, D.L. The love-hate relationship between bacterial polysaccharides and the host immune system / S.K. Mazmanian, D.L. Kasper // *Nature Reviews. Immunology*. - 2006. - Vol. 6, № 11. - P. 849-858.
34. Sears, C.L. Enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*: a rogue among symbiotes / C.L. Sears // *Clinical Microbiology Reviews*. - 2009. - Vol. 22, № 2. - P. 349-369, Table of Contents.
35. Wu, S. et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses / S. Wu et al. // *Nature Medicine*. - 2009. - Vol. 15, № 9. - P. 1016-1022.
36. Salyers, A.A. Gupta, A. & Wang, Y. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes / A.A. Salyers, A. Gupta, Y. Wang // *Trends in Microbiology*. - 2004. - Vol. 12, № 9. - P. 412-416.
37. Nava, G.M. Friedrichsen, H.J. & Stappenbeck, T.S. Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon / G.M. Nava, H.J. Friedrichsen, T.S. Stappenbeck // *The ISME journal*. - 2011. - Vol. 5, № 4. - P. 627-638.
38. Lopetuso, L.R. et al. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis / L.R. Lopetuso et al. // *Gut Pathogens*. - 2013. - Vol. 5, № 1. - P. 23.
39. Collins, M.D. et al. The phylogeny of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combinations / M.D. Collins et al. // *International Journal of Systematic Bacteriology*. - 1994. - Vol. 44, № 4. - P. 812-826.
40. Taur, Y. & Pamer, E.G. The Intestinal Microbiota and Susceptibility to Infection in Immunocompromised Patients / Y. Taur, E.G. Pamer // *Current opinion in infectious diseases*. - 2013. - Vol. 26, № 4. - P. 332-337.

41. Picard, C. et al. Review article: bifidobacteria as probiotic agents — physiological effects and clinical benefits / C. Picard et al. // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. - 2005. - Vol. 22, № 6. - P. 495-512.
42. Koropatkin, N.M. Cameron, E.A. & Martens, E.C. How glycan metabolism shapes the human gut microbiota / N.M. Koropatkin, E.A. Cameron, E.C. Martens// *Nature Reviews. Microbiology*. - 2012. - Vol. 10, №5. -P. 323-335.
43. Kamada, N. et al. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota / N. Kamada et al. // *Nature Immunology*. - 2013. - Vol. 14, № 7. - P. 685-690.
44. Dominguez-Bello, M.G. et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns / M.G. Dominguez-Bello et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2010. - Vol. 107, № 26. - P. 11971-11975.
45. Dominguez-Bello, M.G. et al. Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer / M.G. Dominguez-Bello et al, // *Nature Medicine*. - 2016. - Vol. 22, № 3. - P. 250-253.
46. Kozyrskyj, A.L. Ernst, P. & Becker, A.B. Increased risk of childhood asthma from antibiotic use in early life / A.L. Kozyrskyj, P. Ernst, A.B. Becker // *Chest*. - 2007. - Vol. 131, № 6. - P. 1753-1759.
47. Yamamoto-Hanada, K. et al. Influence of antibiotic use in early childhood on asthma and allergic diseases at age 5 / K. Yamamoto-Hanada et al. // *Annals of Allergy, Asthma & Immunology: Official Publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. - 2017. - Vol. 119, № 1. - P. 54-58.
48. Ahmadizar, F. et al. Early life antibiotic use and the risk of asthma and asthma exacerbations in children / F. Ahmadizar et al. // *Pediatric Allergy and Immunology: Official Publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology*. - 2017. - Vol. 28, № 5. - P. 430-437.
49. Risnes, K.R. et al. Antibiotic exposure by 6 months and asthma and allergy at 6 years: Findings in a cohort of 1,401 US children / K.R. Risnes et al. // *American Journal of Epidemiology*. - 2011. - Vol. 173, №3. -P. 310-318.
50. Mulder, B. et al, Antibiotic use during pregnancy and asthma in preschool children: the influence of confounding / B. Mulder et al. // *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. - 2016. - Vol. 46, № 9. - P. 1214-1226.
51. Stensballe, L.G. et al. Use of antibiotics during pregnancy increases the risk of asthma in early childhood / L.G. Stensballe et al. // *The Journal of Pediatrics*. - 2013. - Vol. 162, № 4. - P. 832-838.e3.
52. Korpela, K. et al. Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in Finnish pre-school children / K. Korpela et al. // *Nature Communications*. - 2016. - Vol. 7, - P. 10410.
53. Murphy, R. et al. Antibiotic treatment during infancy and increased body mass index in boys: an international cross-sectional study / R. Murphy et al. // *International Journal of Obesity (2005)*. - 2014, -Vol. 38, №8. -P. 1115-1119.
54. Russell, S.L. et al. Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma / S.L. Russell et al. // *EMBO reports*. - 2012. - Vol. 13, № 5. - P. 440-447.
55. Cox, L.M. et al. Altering the intestinal microbiota during a critical developmental window has lasting metabolic consequences / L.M. Cox et al. // *Cell*. - 2014. - Vol. 158, № 4. - P. 705-721.
56. Quercia, S. et al. Early colonisation and temporal dynamics of the gut microbial ecosystem in Standard-bred foals / S. Querela et al. // *Equine Veterinary Journal*. - 2018. -.
57. Koenig, J.E. et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome / J.E. Koenig et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2011. - Vol. 108 Suppl 1, - P. 4578-4585.
58. Xu, J. et al. A genomic view of the human-Bacteroides thetaiotaomicron symbiosis / J. Xu et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2003. - Vol. 299, № 5615. - P. 2074-2076.
59. Turnbaugh, P.J. et al. The effect of diet on the human gut microbiome: a metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice / P.J. Turnbaugh et al. // *Science Translational Medicine*. - 2009. - Vol. 1, № 6. - P. 6ra14.

60. Ley, R.E. et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity / R.E. Ley et al. // *Nature*. - 2006. - Vol. 444, № 7122. - P. 1022-1023.
61. Costello, E.K. et al. Bacterial community variation in human body habitats across space and time / E.K. Costello et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2009. - Vol. 326, № 5960. - P. 1694-1697.
62. Koenig, J.E. et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome / J.E. Koenig et al. // - P. 8.
63. Rakoff-Nahoum, S. et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis / S. Rakoff-Nahoum et al. // *Cell*. - 2004. - Vol. 118, № 2. - P. 229-241.
64. Cash, H.L. et al. Symbiotic bacteria direct expression of an intestinal bactericidal lectin / H.L. Cash et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2006. - Vol. 313, № 5790. - P. 1126-1130.
65. Brandl, K. et al. Vancomycin-resistant enterococci exploit antibiotic-induced innate immune deficits / K. Brandl et al. // *Nature*. - 2008. - Vol. 455, № 7214. - P. 804-807.
66. Kinnebrew, M.A. et al. Interleukin 23 production by intestinal CD103(+)CDU $\beta$ (+) dendritic cells in response to bacterial flagellin enhances mucosal innate immune defense / M.A. Kinnebrew et al. // *Immunity*. - 2012. - Vol. 36, № 2. - P. 276-287.
67. Kinnebrew, M.A. et al. Bacterial flagellin stimulates Toll-like receptor 5-dependent defense against vancomycin-resistant *Enterococcus* infection / M.A. Kinnebrew et al. // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2010. - Vol. 201, № 4. - P. 534-543.
68. Clarke, T.B. et al. Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity / T.B. Clarke et al. // *Nature Medicine*. - 2010. - Vol. 16, № 2. - P. 228-231.
69. Deshmukh, H.S. et al. The microbiota regulates neutrophil homeostasis and host resistance to *Escherichia coli* K1 sepsis in neonatal mice / H.S. Deshmukh et al. // *Nature Medicine*. - 2014. - Vol. 20, № 5. - P. 524-530.
70. Hill, D.A. et al. Commensal bacteria-derived signals regulate basophil hematopoiesis and allergic inflammation / D.A. Hill et al. // *Nature Medicine*. - 2012. - Vol. 18, № 4. - P. 538-546.
71. Ichinohe, T. et al. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection / T. Ichinohe et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2011. - Vol. 108, № 13. - P. 5354-5359.
72. Abt, M.C. et al. Commensal bacteria calibrate the activation threshold of innate antiviral immunity / M.C. Abt et al. // *Immunity*. - 2012. - Vol. 37, № 1. - P. 158-170.
73. Ganal, S.C. et al. Priming of natural killer cells by nonmucosal mononuclear phagocytes requires instructive signals from commensal microbiota / S.C. Ganal et al. // *Immunity*. - 2012. - Vol. 37, № 1. - P. 171-186.
74. Proietti, M. et al. ATP-gated ionotropic P2X7 receptor controls follicular T helper cell numbers in Peyer's patches to promote host-microbiota mutualism / M. Proietti et al. // *Immunity*. - 2014. - Vol. 41, № 5. - P. 789-801.
75. Oh, J.Z. et al. TLR5-mediated sensing of gut microbiota is necessary for antibody responses to seasonal influenza vaccination / J.Z. Oh et al. // *Immunity*. - 2014. - Vol. 41, № 3. - P. 478-492.
76. Bohnhoff, M. Drake, B.L. & Miller, C.P. Effect of streptomycin on susceptibility of intestinal tract to experimental *Salmonella* infection / M. Bohnhoff, B.L. Drake, C.P. Miller // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.). - 1954. - Vol. 86, № 1. - P. 132-137.
77. Bohnhoff, M. Miller, C.P. & Martin, W.R. Resistance of the mouse's intestinal tract to experimental *salmonella* infection, ii. factors responsible for its loss following streptomycin treatment / M. Bohnhoff, C.P. Miller, W.R. Martin // *The Journal of Experimental Medicine*. - 1964. - Vol. 120, - P. 817-828.
78. Miller, C.P. Bohnhoff, M. & Rifkind, D. The effect of an antibiotic on the susceptibility of the mouse's intestinal tract to *Salmonella* infection / C.P. Miller, M. Bohnhoff, D. Rifkind // *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*. - 1956. - Vol. 68, - P. 51-55; discussion 55-58.

79. van der Waaij, D. Berghuis-de Vries, J.M. & Lekkerkerk Lekkerkerk-v, null Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice / D. van der Waaij, J.M. Berghuis-de Vries, null Lekkerkerk Lekkerkerk-v // *The Journal of Hygiene*. - 1971. - Vol. 69, № 3. - P. 405-411.
80. Johansson, M.E.V. et al. Composition and functional role of the mucus layers in the intestine / M.E.V. Johansson et al. // *Cellular and molecular life sciences: CMLS*. - 2011. - Vol. 68, № 22. - P. 3635-3641.
81. Petersson, J. et al. Importance and regulation of the colonic mucus barrier in a mouse model of colitis / J. Petersson et al. // *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*. - 2011. - Vol. 300, № 2. - P. G327-333.
82. Ben-Neriah, Y. & Schmidt-Supprian, M. Epithelial NF-kappaB maintains host gut microflora homeostasis / Y. Ben-Neriah, M. Schmidt-Supprian // *Nature Immunology*. - 2007. - Vol. 8, № 5. - P. 479-481.
83. Pasparakis, M. Regulation of tissue homeostasis by NF-kappaB signalling: implications for inflammatory diseases / M. Pasparakis // *Nature Reviews. Immunology*. - 2009. - Vol. 9, № 11. - P. 778-788.
84. Rakoff-Nahoum, S. Hao, L. & Medzhitov, R. Role of toll-like receptors in spontaneous commensal-dependent colitis / S. Rakoff-Nahoum, L. Hao, R. Medzhitov // *Immunity*. - 2006. - Vol. 25, № 2. - P. 319-329.
85. Jarchum, I. et al. Toll-like receptor 5 stimulation protects mice from acute *Clostridium difficile* colitis / I. Jarchum et al. // *Infection and Immunity*. - 2011. - Vol. 79, № 4. - P. 1498-1503.
86. Ridlon, J.M. Kang, D.-J. & Hylemon, P.B. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria / J.M. Ridlon, D.-J. Kang, P.B. Hylemon // *Journal of Lipid Research*. - 2006. - Vol. 47, № 2. - P. 241-259.
87. Sorg, J.A. & Sonenshein, A.L. Bile salts and glycine as cogerminants for *Clostridium difficile* spores I / J.A. Sorg, A.L. Sonenshein // *Journal of Bacteriology*. - 2008. - Vol. 190, № 7. - P. 2505-2512.
88. Buffie, C.G. et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile* / C.G. Buffie et al. // *Nature*. - 2015. - Vol. 517, № 7533. - P. 205-208.
89. Taur, Y. & Pamer, E.G. Fixing the microbiota to treat *Clostridium difficile* infections / Y. Taur, E.G. Pamer // *Nature medicine*. - 2014. - Vol. 20, № 3. - P. 246-247.
90. Thorburn, A.N. Macia, L. & Mackay, C.R. Diet, Metabolites, and "Western-Lifestyle" Inflammatory Diseases / A.N. Thorburn, L. Macia, C.R. Mackay // *Immunity*. - 2014. - Vol. 40, № 6. - P. 833-842.
91. Maslowski, K.M. & Mackay, C.R. Diet, gut microbiota and immune responses / K.M. Maslowski, C.R. Mackay // *Nature Immunology*. - 2011. - Vol. 12, № 1. - P. 5-9.
92. Wu, G.D. et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes / G.D. Wu et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2011. - Vol. 334, № 6052. - P. 105-108.
93. Sonnenburg, E.D. et al. Diet-induced extinctions in the gut microbiota compound over generations / E.D. Sonnenburg et al. // *Nature*. - 2016. - Vol. 529, № 7585. - P. 212-215.
94. Cummings, J.H. & Macfarlane, G.T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon / J.H. Cummings, G.T. Macfarlane // *The Journal of Applied Bacteriology*. - 1991. - Vol. 70, № 6. - P. 443-459.
95. Desai, M.S. et al. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility / M.S. Desai et al. // *Cell*. - 2016. - Vol. 167, № 5. - P. 1339-1353.e21.
96. Schroeder, B.O. et al. Bifidobacteria or Fiber Protects against Diet-Induced Microbiota-Mediated Colonic Mucus Deterioration / B.O. Schroeder et al. // *Cell Host & Microbe*. - 2018. - Vol. 23, № 1. - P. 27-40.e7.
97. Duncan, S.H. et al. Reduced dietary intake of carbohydrates by obese subjects results in decreased concentrations of butyrate and butyrate-producing bacteria in feces / S.H. Duncan et al. // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2007. - Vol. 73, № 4. - P. 1073-1078.
98. Wrzosek, L. et al. *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent / L. Wrzosek et al. // *BMC biology*. - 2013. - Vol. 11, - P. 61.



99. McRorie, J.W. & McKeown, N.M. Understanding the Physics of Functional Fibers in the Gastrointestinal Tract: An Evidence-Based Approach to Resolving Enduring Misconceptions about Insoluble and Soluble Fiber / J.W. McRorie, N.M. McKeown // *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. - 2017. - Vol. 117, № 2. - P. 251-264.
100. Ishikawa, T. & Nanjo, F. Dietary cycloinulooligosaccharides enhance intestinal immunoglobulin A production in mice / T. Ishikawa, F. Nanjo // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. - 2009. - Vol. 73, № 3. - P. 677-682.
101. Freifeld, A.G. et al. Clinical practice guideline for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer: 2010 update by the infectious diseases society of america / A.G. Freifeld et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2011. - Vol. 52, № 4. - P. E56-93.
102. Lewis, B.B. et al. Loss of Microbiota-Mediated Colonization Resistance to *Clostridium difficile* Infection With Oral Vancomycin Compared With Metronidazole / B.B. Lewis et al. // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2015. - Vol. 212, № 10. - P. 1656-1665.
103. Taur, Y. et al. Role of intestinal microbiota in transplantation outcomes / Y. Taur et al. // *Best Practice & Research. Clinical Haematology*. - 2015. - Vol. 28, № 2-3. - P. 155-161.
104. Zhang, L. et al. Antibiotic administration routes significantly influence the levels of antibiotic resistance in gut microbiota / L. Zhang et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2013. - Vol. 57, № 8. - P. 3659-3666.
105. Isaac, S. et al. Short- and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota / S. Isaac et al. // *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 2017. - Vol. 72, № 1. - P. 128-136.
106. Fuller AT. Is p-aminobenzenesulphonamide the active agent in protonsil therapy? *The Lancet*. 1937;229:194-198.
107. Colebrook L, Buttle GAH, O'Meara RAQ. The mode of action of p-aminobenzene sulphonamide and protonsil in hemolytic Streptococcal infections. *The Lancet*. 1936;228:1323-1326.
108. Radomski, JX. & Mellinger, T.J. The absorption, fate and excretion in rats of the water-soluble azo dyes, FD&C Red No. 2, FD&C Red No. 4, and FD&C Yellow No. 6 / J.L. Radomski, T.J. Mellinger // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. - 1962. - Vol. 136. - P. 259-266.
109. Klotz, U. et al. Therapeutic efficacy of sulfasalazine and its metabolites in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease / U. Klotz et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 1980. - Vol. 303, № 26. - P. 1499-1502.
110. Plosker, G.L. & Croom, K.F. Sulfasalazine: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis / G.L. Plosker, K.F. Croom // *Drugs*. - 2005. - Vol. 65, № 13. - P. 1825-1849.
111. Spanogiannopoulos, P. et al. The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism / P. Spanogiannopoulos et al. // *Nature Reviews. Microbiology*. - 2016. - Vol. 14, № 5. - P. 273-287.
112. Pond, S.M. & Tozer, T.N. First-pass elimination. Basic concepts and clinical consequences / S.M. Pond, T.N. Tozer // *Clinical Pharmacokinetics*. - 1984. - Vol. 9, № 1. - P. 1-25.
113. Backhed, F. et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine / F. Backhed et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2005. - Vol. 307, № 5717. - P. 1915-1920.
114. Arkhipova, O.V. & Akumenko, V.K. [Unsaturated organic acids as terminal electron acceptors for reductase chains of anaerobic bacteria] / O.V. Arkhipova, V.K. Akumenko // *Mikrobiologiya*. - 2005. - Vol. 74, № 6. - P. 725-737.
115. Novel, G. Didier-Fichet, M.L. & Stoeber, F. Inducibility of beta-glucuronidase in wild-type and hexuronate-negative mutants of *Escherichia coli* K-12 / G. Novel, M.L. Didier-Fichet, F. Stoeber // *Journal of Bacteriology*. - 1974. - Vol. 120, № 1. - P. 89-95.
116. Haiser, H.J. et al. Mechanistic insight into digoxin inactivation by *Eggerthella lenta* augments our understanding of its pharmacokinetics / H.J. Haiser et al. // *Gut Microbes*. - 2014. - Vol. 5, № 2. - P. 233-238.

117. Zanger, U.M. & Schwab, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation / U.M. Zanger, M. Schwab // *Pharmacology & Therapeutics*. - 2013. - Vol. 138, № 1. - P. 103-141.
118. de Groot, M.J. Designing better drugs: predicting cytochrome P450 metabolism / M.J. de Groot // *Drug Discovery Today*. - 2006. - Vol. 11, № 13-14. - P. 601-606.
119. Haiser, H.J. & Turnbaugh, P.J. Developing a metagenomic view of xenobiotic metabolism / H.J. Haiser, P.J. Turnbaugh // *Pharmacological Research*. - 2013, - Vol. 69, № 1. - P. 21-31.
120. Delomenie, C. et al. Identification and functional characterization of arylamine N-acetyltransferases in eubacteria: evidence for highly selective acetylation of 5-aminosalicylic acid / C. Delomenie et al. // *Journal of Bacteriology*. - 2001. - Vol. 183, № 11. - P. 3417-3427.
121. Carmody, R.N. & Turnbaugh, P.J. Host-microbial interactions in the metabolism of therapeutic and diet-derived xenobiotics / R.N. Carmody, P.J. Turnbaugh // *The Journal of Clinical Investigation*. - 2014. - Vol. 124, № 10. - P. 4173-4181.
122. Wells, P.G. et al. Glucuronidation and the UDP-glucuronosyltransferases in health and disease / P.G. Wells et al. // *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*. - 2004. - Vol. 32, № 3. - P. 281-290.
123. Wiseman, L.R. & Markham, A. Irinotecan. A review of its pharmacological properties and clinical efficacy in the management of advanced colorectal cancer / L.R. Wiseman, A. Markham // *Drugs*. - 1996. - Vol. 52, № 4. - P. 606-623.
124. Stein, A. Voigt, W. & Jordan, K. Chemotherapy-induced diarrhea: pathophysiology, frequency and guideline-based management / A. Stein, W. Voigt, K. Jordan // *Therapeutic Advances in Medical Oncology*. - 2010. - Vol. 2, № 1. - P. 51-63.
125. Mani, S. Boelsterli, U.A. & Redinbo, M.R. Understanding and modulating mammalian-microbial communication for improved human health / S. Mani, U.A. Boelsterli, M.R. Redinbo // *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. - 2014. - Vol. 54. - P. 559-580.
126. Higuchi, K. et al. Present status and strategy of NSAIDs-induced small bowel injury / K. Higuchi et al. // *Journal of Gastroenterology*. - 2009. - Vol. 44, № 9. - P. 879-888.
127. Saitta, K.S. et al. Bacterial  $\beta$ -glucuronidase inhibition protects mice against enteropathy induced by indomethacin, ketoprofen or diclofenac: mode of action and pharmacokinetics / K.S. Saitta et al. // *Xenobiotica; the Fate of Foreign Compounds in Biological Systems*, - 2014. - Vol. 44, № 1. - P. 28-35.
128. Russell, W.M. & Klaenhammer, T.R. Identification and cloning of *gusA*, encoding a new beta-glucuronidase from *Lactobacillus gasseri* ADH / W.M. Russell, T.R. Klaenhammer // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2001. - Vol. 67, № 3. - P. 1253-1261.
129. Flores, R. et al. Association of fecal microbial diversity and taxonomy with selected enzymatic functions / R. Flores et al. // *PloS One*. - 2012. - Vol. 7, № 6. - P. E39745.
130. Beaud, D. Tailliez, P. & Anba-Mondoloni, J. Genetic characterization of the beta-glucuronidase enzyme from a human intestinal bacterium, *Ruminococcus gnavus* / D. Beaud, P. Tailliez, J. Anba-Mondoloni // *Microbiology (Reading, England)*. - 2005. - Vol. 151, № Pt 7. - P. 2323-2330.
131. Wallace, B.D. et al. Structure and Inhibition of Microbiome  $\beta$ -Glucuronidases Essential to the Alleviation of Cancer Drug Toxicity / B.D. Wallace et al. // *Chemistry & Biology*. - 2015. - Vol. 22, № 9. - P. 1238-1249.
132. Dabek, M. et al. Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene *gus* in human colonic bacteria / M. Dabek et al. // *FEMS microbiology ecology*. - 2008. - Vol. 66, № 3. - P. 487-495.
133. Matzuk, M.M. Shlomchik, M. & Shaw, L.M. Making digoxin therapeutic drug monitoring more effective / M.M. Matzuk, M. Shlomchik, L.M. Shaw // *Therapeutic Drug Monitoring*. - 1991. - Vol. 13, № 3. - P. 215-219.
134. Lindenbaum, J. et al. Inactivation of digoxin by the gut flora: reversal by antibiotic therapy / J. Lindenbaum et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 1981. - Vol. 305, № 14. - P. 789-794.

135. Peters, U. Falk, L.C. & Kalman, S.M. Digoxin metabolism in patients IU. Peters, L.C. Falk, S.M. Kaiman // Archives of Internal Medicine. - 1978. - Vol. 138, № 7. - P. 1074-1076.
136. Saha, J.R. et al. Digoxin-inactivating bacteria: identification in human gut flora / J.R. Saha et al. // Science (New York, N.Y.). - 1983. - Vol. 220, № 4594. - P. 325-327.
137. Rowland, I.R. Factors affecting metabolic activity of the intestinal microflora / I.R. Rowland // Drug Metabolism Reviews. - 1988. - Vol. 19, № 3-4. - P. 243-261.
138. Haiser, H.J. et al. Predicting and manipulating cardiac drug inactivation by the human gut bacterium *eggerthella lenta* / H.J. Haiser et al. // Science (New York, N.Y.). - 2013. - Vol. 341, № 6143. - P. 295-298.
139. Clayton, T.A. et al. Pharmacometabonomic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism / T.A. Clayton et al. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - 2009. - Vol. 106, № 34. - P. 14728-14733.
140. Lee, J.R. et al. Gut microbiota and tacrolimus dosing in kidney transplantation / J.R. Lee et al. // PLoS One. - 2015. - Vol. 10, № 3. - P. E0122399.
141. Buffie, C.G. et al. Profound alterations of intestinal microbiota following a single dose of clindamycin results in sustained susceptibility to *Clostridium difficile*-induced colitis / C.G. Buffie et al. // Infection and Immunity. - 2012. - Vol. 80, № 1. - P. 62-73.
142. Ubeda, C. et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus* domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans / C. Ubeda et al. // The Journal of Clinical Investigation. - 2010. - Vol. 120, № 12. - P. 4332-4341.
143. Levison, M.E. & Levison, J.H. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibacterial agents / M.E. Levison, J.H. Levison // Infectious Disease Clinics of North America. - 2009. - Vol. 23, № 4. - P. 791-815, vii.
144. Jernberg, C. et al. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota / C. Jernberg et al. // The ISME Journal. - 2007. - Vol. 1, № 1. - P. 56-66.
145. Kim, S. Covington, A. & Pamer, E.G. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens / S. Kim, A. Covington, E.G. Pamer // Immunological Reviews. - 2017. - Vol. 279, № 1. - P. 90-105.
146. Iida, N. et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment / N. Iida et al. // Science (New York, N.Y.). - 2013. - Vol. 342, № 6161. - P. 967-970.
147. Viaud, S. et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide / S. Viaud et al. // Science (New York, N.Y.). - 2013. - Vol. 342, № 6161. - P. 971-976.
148. Sivan, A. et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy / A. Sivan et al. // Science (New York, N.Y.). - 2015. - Vol. 350, № 6264. - P. 1084-1089.
149. Vetzizou, M. et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota / M. Vetzizou et al. // Science (New York, N.Y.). - 2015. - Vol. 350, № 6264. - P. 1079-1084.
150. Dubin, K. et al. Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint-blockade-induced colitis / K. Dubin et al. // Nature Communications. - 2016. - Vol. 7, - P. 10391.
151. Velasco, E. et al. Comparative study of clinical characteristics of neutropenic and non-neutropenic adult cancer patients with bloodstream infections / E. Velasco et al. // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology. - 2006. - Vol. 25, № 1. - P. 1-7.
152. Rubin, L.G. et al. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host / L.G. Rubin et al. // Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. - 2014. - Vol. 58, № 3. - P. E44-100.
153. Gratwohl, A. Baldomero, H. & Sureda, A. Indications for and current practice of allogeneic and autologous HSCT / A. Gratwohl, H. Baldomero, A. Sureda // The EBMT handbook—haematopoietic stem cell transplantation: European Group for Blood and Marrow Transplantation 8c European School of Hematology. European School of Hematology, Paris, France / - 2012. - P. 302-315.

*Микробиом человека*

154. Wodnar-Filipowicz, A. Biological properties of haematopoietic stem cells / A. Wodnar-Filipowicz // red. Hematopoietic stem cell transplantation. ESH & EBMT, Paris. - 2008. - P. 34-44.
155. Gratwohl, A. & Carreras, E. Principles of conditioning / A. Gratwohl, E. Carreras // Haematopoietic Stem Cell Transplantation. The EBMT Handbook, 5th edn. Forum Service Editore: Genoa, Italy. - 2008. - P. 129-142.
156. Blijlevens, N. et al. Prospective oral mucositis audit: oral mucositis in patients receiving high-dose melphalan or BEAM conditioning chemotherapy—European Blood and Marrow Transplantation Mucositis Advisory Group / N. Blijlevens et al. // Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology. - 2008. - Vol. 26, № 9. - P. 1519-1525.
157. Bow, E.J. et al. Cytotoxic therapy-induced D-xylose malabsorption and invasive infection during remission-induction therapy for acute myeloid leukemia in adults / E.J. Bow et al. // Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology. - 1997. - Vol. 15, № 6. - P. 2254-2261.
158. Johnson, E.J. et al. Reduced absorption of oral ciprofloxacin after chemotherapy for haematological malignancy / E.J. Johnson et al. // The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. - 1990. - Vol. 25, № 5. - P. 837-842.
159. Bodey, G.P. et al. Quantitative relationships between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia / G.P. Bodey et al. // Annals of Internal Medicine. - 1966. - Vol. 64, № 2. - P. 328-340.
160. Marena, C. et al. Incidence of, and risk factors for, nosocomial infections among hematopoietic stem cell transplantation recipients, with impact on procedure-related mortality / C. Marena et al. // Infection Control and Hospital Epidemiology. - 2001. - Vol. 22, № 8. - P. 510-517.
161. Oliveira, A.L. et al. Epidemiology of bacteremia and factors associated with multi-drug-resistant gram-negative bacteremia in hematopoietic stem cell transplant recipients / A.L. Oliveira et al. // Bone Marrow Transplantation. - 2007. - Vol. 39, № 12. - P. 775-781.
162. Rovira, M. Mensa, J. & Carreras, E. Infections after HSCT / M. Rovira, J. Mensa, E. Carreras // The EBMT-ESH handbook on haematopoietic stem cell transplantation. — 2012. — P. 196-215.
163. Averbuch, D. et al. European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia / D. Averbuch et al. // Haematologica. - 2013. - Vol. 98, № 12. - P. 1826-1835.
164. Mikulska, M. Del Bono, V. & Viscoli, C. Bacterial infections in hematopoietic stem cell transplantation recipients / M. Mikulska, V. Del Bono, C. Viscoli // Current Opinion in Hematology. - 2014. - Vol. 21, № 6. - P. 451-458.
165. Carreras, E. Early complications after HSCT / E. Carreras // The EBMT handbook on haematopoietic stem cell transplantation. Forum Service, Geneva. - 2012. - P. 177-195.
166. Stoma, I. et al. Diagnostic value of sepsis biomarkers in hematopoietic stem cell transplant recipients in a condition of high prevalence of gram-negative pathogens / I. Stoma et al. // Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy. - 2017. - Vol. 10, № 1. - P. 15-21.
167. Massaro, K.S.R. et al. Risk factor for death in hematopoietic stem cell transplantation: are biomarkers useful to foresee the prognosis in this population of patients? / K.S.R. Massaro et al. // Infection. - 2014. - Vol. 42, № 6. - P. 1023-1032.
168. Taur, Y. et al. The effects of intestinal tract bacterial diversity on mortality following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Y. Taur et al. // Blood. - 2014. - Vol. 124, № 7. - P. 1174-1182.
169. Taur, Y. & Pamer, E.G. Microbiome mediation of infections in the cancer setting / Y. Taur, E.G. Pamer // Genome Medicine. - 2016. - Vol. 8, № 1. - P. 40.
170. Abt, M.C. McKenney, P.T. & Pamer, E.G. Clostridium difficile colitis: pathogenesis and host defence / M.C. Abt, P.T. McKenney, E.G. Pamer // Nature Reviews. Microbiology. - 2016. - Vol. 14, № 10. - P. 609-620.

171. Stoma, I. et al. Mesenchymal stem cells transplantation in hematological patients with acute graft-versus-host disease: characteristics and risk factors for infectious complications / I. Stoma et al. // *Annals of Hematology*. - 2018. - Vol. 97, № 5. - P. 885-891.
172. Kamboj, M. et al. The changing epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) bacteremia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients / M. Kamboj et al. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. - 2010. - Vol. 16, № 11. - P. 1576-1581.
173. Almyroudis, N.G. et al. Pre- and post-engraftment bloodstream infection rates and associated mortality in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients / N.G. Almyroudis et al. // *Transplant Infectious Disease: An Official Journal of the Transplantation Society*. - 2005. - Vol. 7, № 1. - P. 11-17.
174. Stoma, I. et al. Decolonization of Intestinal Carriage of MDR/XDR Gram-Negative Bacteria with Oral Colistin in Patients with Hematological Malignancies: Results of a Randomized Controlled Trial / I. Stoma et al. // *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. - 2018. - Vol. 10, № 1. - P. E2018030.
175. van Vliet, M.J. et al. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis / M.J. van Vliet et al. // *PLoS pathogens*. - 2010. - Vol. 6, № 5. - P. E1000879.
176. Crawford, J. Dale, D.C. & Lyman, G.H. Chemotherapy-induced neutropenia: risks, consequences, and new directions for its management / J. Crawford, D.C. Dale, G.H. Lyman // *Cancer*. - 2004. - Vol. 100, № 2. - P. 228-237.
177. Villa, A. & Sonis, S.T. Mucositis: pathobiology and management / A. Villa, S.T. Sonis // *Current Opinion in Oncology*. - 2015. - Vol. 27, № 3. - P. 159-164.
178. Balletto, E. & Mikulska, M. Bacterial infections in hematopoietic stem cell transplant recipients / E. Balletto, M. Mikulska // *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. - 2015. - Vol. 7, № 1. - P. E2015045.
179. Gjaerde, L.I. Moser, C. & Sengetav, H. Epidemiology of bloodstream infections after myeloablative and non-myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A single-center cohort study / L.I. Gjaerde, C. Moser, H. Sengelov // *Transplant Infectious Disease*. - 2017. - Vol. 19, № 5. - P. E12730.
180. Stoma, I. et al. Risk factors for mortality in patients with bloodstream infections during the pre-engraftment period after hematopoietic stem cell transplantation / I. Stoma et al. // *Blood Research*. - 2016. - Vol. 51, № 2. - P. 102.
181. Averbuch, D. et al. Antimicrobial Resistance in Gram-Negative Rods Causing Bacteremia in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: Intercontinental Prospective Study of the Infectious Diseases Working Party of the European Bone Marrow Transplantation Group / D. Averbuch et al. // *Clinical Infectious Diseases*. - 2017. - Vol. 65, № 11. - P. 1819-1828.
182. Trecarichi, E.M. et al. Current epidemiology and antimicrobial resistance data for bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies: an Italian multicentre prospective survey / E.M. Trecarichi et al. // *Clinical Microbiology and Infection*. - 2015. - Vol. 21, № 4. - P. 337-343.
183. Forcina, A. et al. Control of infectious mortality due to carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in hematopoietic stem cell transplantation / A. Forcina et al. // *Bone Marrow Transplantation*. - 2017. - Vol. 52, № 1. - P. 114-119.
184. Taur, Y. et al. Intestinal Domination and the Risk of Bacteremia in Patients Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Y. Taur et al. // *Clinical Infectious Diseases*. - 2012. - Vol. 55, № 7. - P. 905-914.
185. Bloodstream Infection Event (Central Line-Associated Bloodstream Infection and Non-central Line Associated Bloodstream Infection). Available at: [https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/4psc\\_clab-current.pdf](https://www.cdc.gov/nhsn/pdfs/pscmanual/4psc_clab-current.pdf). Accessed 13 March 2018.
186. Buffie, C.G. & Pamer, E.G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens / C.G. Buffie, E.G. Pamer // *Nature Reviews Immunology*. - 2013. - Vol. 13, № 11. - P. 790-801.

187. Vogt, S.L. & Finlay, B.B. Gut microbiota-mediated protection against diarrheal infections / S.L. Vogt, B.B. Finlay // *Journal of Travel Medicine*. - 2017. - Vol. 24, № Suppl\_1. - P. S39-S43.
188. Scales, B.S. Dickson, R.P. & Huffnagle, G.B. A tale of two sites: how inflammation can reshape the microbiomes of the gut and lungs / B.S. Scales, R.P. Dickson, G.B. Huffnagle // *Journal of Leukocyte Biology*. - 2016. - Vol. 100, № 5. - P. 943-950.
189. Stecher, B. The Roles of Inflammation, Nutrient Availability and the Commensal Microbiota in Enteric Pathogen Infection / B. STECHER // - 2018. - - P. 17.
190. Bucaneve, G. et al. Levofloxacin to Prevent Bacterial Infection in Patients with Cancer and Neutropenia / G. Bucaneve et al. // *New England Journal of Medicine*. - 2005. - Vol. 353, № 10. - P. 977-987.
191. Chong, Y. et al. Clinical impact of fluoroquinolone prophylaxis in neutropenic patients with hematological malignancies / Y. Chong et al. // *International Journal of Infectious Diseases*. - 2011. - Vol. 15, № 4. - P. E277-e281.
192. Birgand, G. et al. Duration of colonization by extended-spectrum (J-lactamase-producing Enterobacteriaceae after hospital discharge / G. Birgand et al. // *American Journal of Infection Control*. - 2013. - Vol. 41, № 5. - P. 443-447.
193. Lohr, I.H. et al. Long-term faecal carriage in infants and intra-household transmission of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* following a nosocomial outbreak / I.H. Lohr et al. // *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 2013. - Vol. 68, № 5. - P. 1043-1048.
194. Schwaber, M.J. & Carmeli, Y. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: a potential threat / M.J. Schwaber, Y. Carmeli // *JAMA*. - 2008. - Vol. 300, № 24. - P. 2911-2913.
195. Yu, V.L. et al. Virulence characteristics of *Klebsiella* and clinical manifestations of *K. pneumoniae* bloodstream infections / V.L. Yu et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2007. - Vol. 13, № 7. - P. 986-993.
196. Denis, B. et al. Prevalence, risk factors, and impact on clinical outcome of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* bacteraemia: a five-year study / B. Denis et al. // *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*. - 2015. - Vol. 39, - P. 1-6.
197. Freifeld, A.G. et al. Clinical Practice Guideline for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America / A.G. Freifeld et al. // *Clinical Infectious Diseases*. - 2011. - Vol. 52, № 4. - P. E56-e93.
198. van Saene, H.K. & Nicolai, J.P. The prevention of wound infections in burn patients / H.K. van Saene, J.P. Nicolai // *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery*. - 1979. - Vol. 13, № 1. - P. 63-67.
199. Stoutenbeek, C.P. et al. The effect of selective decontamination of the digestive tract on colonisation and infection rate in multiple trauma patients / C.P. Stoutenbeek et al. // *Intensive Care Medicine*. - 1984. - Vol. 10, № 4. - P. 185-192.
200. van der Waaij, D. The digestive tract in immunocompromised patients: importance of maintaining its resistance to colonization, especially in hospital in-patients and those taking antibiotics / D. van der Waaij // *Antonie Van Leeuwenhoek*. - 1984. - Vol. 50, № 5-6. - P. 745-761.
201. Bhaduri, S. et al. Infection prophylaxis in acute leukaemia patients: comparison of selective and total antimicrobial decontamination of the gastrointestinal tract / S. Bhaduri et al. // *Folia Haematologica (Leipzig, Germany)*. - 1982. - Vol. 109, № 3. - P. 377-389.
202. Heimdahl, A. et al. Selective decontamination of alimentary tract microbial flora in patients treated with bone marrow transplantation. A microbiological study / A. Heimdahl et al. // *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. - 1984. - Vol. 16, № 1. - P. 51-60.
203. Jehn, U. et al. [Comparative study on the value of selective decontamination of the digestive tract in acute leukemia patients (author's transl)] / U. Jehn et al. // *Klinische Wochenschrift*. - 1981. - Vol. 59, № 19. - P. 1093-1099.

204. Wiesner, R.H. et al. Selective bowel decontamination to prevent gram-negative bacterial and fungal infection following orthotopic liver transplantation / R.H. Wiesner et al. // *Transplantation Proceedings*. - 1987. - Vol. 19, № 1 Pt 3. - P. 2420-2423.
205. Sanchez-Ramirez, C. et al. Long-term use of selective digestive decontamination in an ICU highly endemic for bacterial resistance / C. Sanchez-Ramirez et al. // *Critical Care (London, England)*. - 2018. - Vol. 22, № 1, -P. 141.
206. Saidel-Odes, L. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of selective digestive decontamination using oral gentamicin and oral polymyxin E for eradication of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* carriage / L. Saidel-Odes et al. // *Infection Control and Hospital Epidemiology*. - 2012. - Vol. 33, № 1. - P. 14-19.
207. Huttner, B. et al. Decolonization of intestinal carriage of extended-spectrum (3-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* with oral colistin and neomycin; a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / B. Huttner et al. // *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 2013. - Vol. 68, № 10. - P. 2375-2382.
208. de Jonge, E. et al. Effects of selective decontamination of digestive tract on mortality and acquisition of resistant bacteria in intensive care: a randomised controlled trial / E. de Jonge et al. // *Lancet (London, England)*. - 2003. - Vol. 362, № 9389. - P. 1011-1016.
209. Rieg, S. et al. Intestinal decolonization of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL): a retrospective observational study in patients at risk for infection and a brief review of the literature / S. Rieg et al. // *BMC infectious diseases*. - 2015. - Vol. 15, - P. 475.
210. Zuckerman, T. et al. SCT in patients with carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*: a single center experience with oral gentamicin for the eradication of carrier state / T. Zuckerman et al. // *Bone Marrow Transplantation*. - 2011. - Vol. 46, № 9. - P. 1226-1230.
211. Mody, L. et al. Mupirocin-based decolonization of *Staphylococcus aureus* carriers in residents of long-term care facilities; a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / L. Mody et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2003. - Vol. 37, № 11, -P. 1467-1474.
212. Weintrob, A. et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study on Decolonization Procedures for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among HIV-infected Adults / A. Weintrob et al. // *PloS One*. - 2015. - Vol. 10, № 5. - P. E0128071.
213. Lubbert, C. et al. Rapid emergence of secondary resistance to gentamicin and colistin following selective digestive decontamination in patients with KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae*: a single-centre experience / C. Lubbert et al. // *International Journal of Antimicrobial Agents*. - 2013. - Vol. 42, № 6, - P. 565-570.
214. Kronman, M.P. et al. Intestinal decontamination of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* after recurrent infections in an immunocompromised host / M.P. Kronman et al. // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. - 2014. - Vol. 80, № 1. - P. 87-89.
215. Tascini, C. et al. Oral gentamicin gut decontamination for prevention of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* infections: relevance of concomitant systemic antibiotic therapy / C. Tascini et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2014. - Vol. 58, № 4. - P. 1972-1976.
216. Bodey, G.P. et al. Protected environment-prophylactic antibiotic program in the chemotherapy of acute leukemia / G.P. Bodey et al. // *The American Journal of the Medical Sciences*. - 1971. - Vol. 262, № 3. - P. 138-151.
217. Bodey, G.P. et al. Protected environment units for the cancer patient / G.P. Bodey et al. // *CA: a cancer journal for clinicians*. - 1971. - Vol. 21, № 4. - P. 215-219.
218. Bodey, G.P. Loftis, J. Bowen, E. Protected environment for cancer patients. Effect of a prophylactic antibiotic regimen on the microbial flora of patients undergoing cancer chemotherapy / G.P. Bodey, J. Loftis, E. Bowen // *Archives of Internal Medicine*. - 1968. - Vol. 122, № 1. - P. 23-30.

*Микробиом человека*

219. Bodey, G.P. Hart, J. & Freireich, E.J. Prolonged survival of a leukemic patient in a protected environment / G.P. Bodey, J. Hart, E.J. Freireich // *The American Journal of the Medical Sciences*. - 1968. - Vol. 256, №2. - P. 112-121.
220. Armstrong, D. Symposium on infectious complications of neoplastic disease (Part II). Protected environments are discomfoting and expensive and do not offer meaningful protection / D. Armstrong // *The American Journal of Medicine*. - 1984. - Vol. 76, № 4. - P. 685-689.
221. Bodey, G.P. et al. Protected Environment Units For the Cancer Patient / G.P. Bodey et al. // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. - 1971. - Vol. 21, № 4. - P. 214-219.
222. Bodey, G.P. et al. Treatment of acute leukemia in protected environment units / G.P. Bodey et al. // *Cancer*. - 1979. - Vol. 44, № 2. - P. 431-436.
223. Buffie, C.G. & Pamer, E.G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens / C.G. Buffie, E.G. Pamer // *Nature Reviews Immunology*. - 2013. - Vol. 13, № 11. - P. 790-801.
224. Taur, Y. et al. Intestinal Domination and the Risk of Bacteremia in Patients Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Y. Taur et al. // *Clinical Infectious Diseases*. - 2012. - Vol. 55, № 7. - P. 905-914.
225. Libbrecht, C. et al. Impact of a change in protected environment on the occurrence of severe bacterial and fungal infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation / C. Libbrecht et al. // *European Journal of Haematology*. - 2016. - Vol. 97, № 1. - P. 70-77.
226. Taur, Y. et al. Intestinal domination and the risk of bacteremia in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / Y. Taur et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2012. - Vol. 55, № 7. - P. 905-914.
227. Becattini, S. Taur, Y. & Pamer, E.G. Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease / S. Becattini, Y. Taur, E.G. Pamer // *Trends in Molecular Medicine*. ~ 2016. - Vol. 22, № 6. - P. 458-478.
228. Apperley, J. & Masszi, T. Graft-versus-host disease / J. Apperley, T. Masszi // *Haematopoietic Stem Cell Transplantation*. 6th edition. ESH-EBMT Handbook. - 2012. - P. 233.
229. Weisdorf D. Graft vs host disease: pathology, prophylaxis and therapy GVHD overview / Weisdorf D. // - 2008. - Vol. 21, - P. 99-100.
230. Przepiorka, D. et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading / D. Przepiorka et al. // *Bone Marrow Transplantation*. - 1995. - Vol. 15, № 6. - P. 825-828.
231. Ferrara, J.L.M. et al. Graft-versus-host disease / J.L.M. Ferrara et al. // *Lancet (London, England)*. - 2009. - Vol. 373, № 9674. - P. 1550-1561.
232. Jenq, R.R. et al. Regulation of intestinal inflammation by microbiota following allogeneic bone marrow transplantation / R.R. Jenq et al. // *The Journal of Experimental Medicine*. - 2012. - Vol. 209, № 5. - P. 903-911.
233. Jenq, R.R. et al. Intestinal *Blautia* Is Associated with Reduced Death from Graft-versus-Host Disease / R.R. Jenq et al. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation; Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. - 2015. - Vol. 21, № 8. - P. 1373-1383.
234. Peled, J.U. et al. Intestinal Microbiota and Relapse After Hematopoietic-Cell Transplantation / J.U. Peled et al. // *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*. - 2017. - Vol. 35, № 15. - P. 1650-1659.
235. Ghose, C. *Clostridium difficile* infection in the twenty-first century / C. Ghose // *Emerging Microbes & Infections*. - 2013. - Vol. 2, № 9. - P. E62.
236. Moore, S.C. *Clostridium difficile*: More Challenging than Ever / S.C. Moore // *Critical Care Nursing Clinics of North America*. - 2018. - Vol. 30, № 1. - P. 41-53.
237. Davis, B.M. et al. Impact of a prevention bundle on *Clostridium difficile* infection rates in a hospital in the Southeastern United States / B.M. Davis et al. // *American Journal of Infection Control*. - 2016. - Vol. 44, № 12. - P. 1729-1731.



238. Lipp, M.J. Nero, D.C. & Callahan, M.A. Impact of hospital-acquired *Clostridium difficile* / M.J. Lipp, D.C. Nero, M.A. Callahan // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. - 2012. - Vol. 27, № 11. - P. 1733-1737.
239. Magill, S.S. et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections / S.S. Magill et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 2014. - Vol. 370, № 13. - P. 1198-1208.
240. Boyle, M.L. Ruth-Sahd, L.A. & Zhou, Z. Fecal microbiota transplant to treat recurrent *Clostridium difficile* infections / M.L. Boyle, L.A. Ruth-Sahd, Z. Zhou // *Critical Care Nurse*. - 2015. - Vol. 35, № 2. - P. 51-64; quiz 65.
241. Leung, S. Metzger, B.S. & Currie, B.P. Incidence of *Clostridium difficile* infection in patients with acute leukemia and lymphoma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation / S. Leung, B.S. Metzger, B.P. Currie // *Infection Control and Hospital Epidemiology*. - 2010. - Vol. 31, № 3. - P. 313-315.
242. Lessa, F.C. Gould, C.V. & McDonald, L.C. Current status of *Clostridium difficile* infection epidemiology / F.C. Lessa, C.V. Gould, L.C. McDonald // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2012. - Vol. 55 Suppl 2, - P. S65-70.
243. Chopra, T. et al. Recent epidemiology of *Clostridium difficile* infection during hematopoietic stem cell transplantation / T. Chopra et al. // *Clinical Transplantation*. - 2011. - Vol. 25, № 1. - P. E82-87.
244. Willems, L. et al. *Clostridium difficile* infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: incidence, risk factors, and outcome / L. Willems et al. // *Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. - 2012. - Vol. 18, № 8. - P. 1295-1301.
245. Alonso, C.D. et al. Epidemiology and outcomes of *Clostridium difficile* infections in hematopoietic stem cell transplant recipients / C.D. Alonso et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2012. - Vol. 54, № 8. - P. 1053-1063.
246. Owens, R.C. et al. Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection / R.C. Owens et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2008. - Vol. 46 Suppl 1, - P. S19-31.
247. McDonald, L.C. et al. An epidemic, toxin gene-variant strain of *Clostridium difficile* / L.C. McDonald et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 2005. - Vol. 353, № 23. - P. 2433-2441.
248. Rupnik, M. Wilcox, M.H. & Gerding, D.N. *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis / M. Rupnik, M.H. Wilcox, D.N. Gerding // *Nature Reviews. Microbiology*. - 2009. - Vol. 7, № 7. - P. 526-536.
249. Snyderman, D.R. et al. U.S.-Based National Sentinel Surveillance Study for the Epidemiology of *Clostridium difficile*-Associated Diarrheal Isolates and Their Susceptibility to Fidaxomicin / D.R. Snyderman et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2015. - Vol. 59, № 10. - P. 6437-6443.
250. van Nood, E. et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile* / E. van Nood et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 2013. - Vol. 368, № 5. - P. 407-415.
251. van Beurden, Y.H. et al. Complications, effectiveness, and long term follow-up of fecal microbiota transfer by nasoduodenal tube for treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection / Y.H. van Beurden et al. // *United European Gastroenterology Journal*. - 2017. - Vol. 5, № 6. - P. 868-879.
252. Lee, Y.J. et al. Protective Factors in the Intestinal Microbiome Against *Clostridium difficile* Infection in Recipients of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation / Y.J. Lee et al. // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2017. - Vol. 215, № 7. - P. 1117-1123.
253. Chang, J.Y. et al. Decreased diversity of the fecal Microbiome in recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea / J.Y. Chang et al. // *The Journal of Infectious Diseases*. - 2008. - Vol. 197, № 3. - P. 435-438.
254. Caballero, S. et al. Cooperating Commensals Restore Colonization Resistance to Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* / S. Caballero et al. // *Cell Host & Microbe*. - 2017. - Vol. 21, № 5. - P. 592-602.e4.

*Микробиом человека*

255. Becattini, S. et al. Commensal microbes provide first line defense against *Listeria monocytogenes* infection / S. Becattini et al. // *The Journal of Experimental Medicine*. - 2017. - Vol. 214, № 7. - P. 1973-1989.
256. Tvede, M. & Rask-Madsen, J. Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhoea in six patients / M. Tvede, J. Rask-Madsen // *Lancet* (London, England). - 1989. - Vol. 1, № 8648. - P. 1156-1160.
257. Lawley, T.D. et al. Targeted restoration of the intestinal microbiota with a simple, defined bacteriotherapy resolves relapsing *Clostridium difficile* disease in mice / T.D. Lawley et al. // *PLoS pathogens*. - 2012. - Vol. 8, № 10. - P. E1002995.
258. Reeves, A.E. et al. Suppression of *Clostridium difficile* in the gastrointestinal tracts of germ-free mice inoculated with a murine isolate from the family Lachnospiraceae / A.E. Reeves et al. // *Infection and Immunity*. - 2012. - Vol. 80, № 11. - P. 3786-3794.
259. Martinez, I. et al. Gut microbiome composition is linked to whole grain-induced immunological improvements / I. Martinez et al. // *The ISME journal*. - 2013. - Vol. 7, № 2. - P. 269-280.
260. David, L.A. et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome / L.A. David et al. // *Nature*. - 2014. - Vol. 505, № 7484. - P. 559-563.
261. Salonen, A. et al. Impact of diet and individual variation on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men / A. Salonen et al. // *The ISME journal*. - 2014. - Vol. 8, № 11. - P. 2218-2230.
262. Kamada, N. et al. Regulated virulence controls the ability of a pathogen to compete with the gut microbiota / N. Kamada et al. // *Science* (New York, N.Y.). - 2012. - Vol. 336, № 6086. - P. 1325-1329.
263. Maltby, R. et al. Nutritional basis for colonization resistance by human commensal *Escherichia coli* strains HS and Nissle 1917 against *E. coli* O157:H7 in the mouse intestine / R. Maltby et al. // *PLoS One*. - 2013. - Vol. 8, № 1. - P. E53957.
264. Fabich, A.J. et al. Comparison of carbon nutrition for pathogenic and commensal *Escherichia coli* strains in the mouse intestine / A.J. Fabich et al. // *Infection and Immunity*. - 2008. - Vol. 76, № 3. - P. 1143-1152.
265. Vimr, E.R. et al. Diversity of microbial sialic acid metabolism / E.R. Vimr et al. // *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*. - 2004. - Vol. 68, № 1. - P. 132-153.
266. Martens, E.C. Chiang, H.C. & Gordon, J.I. Mucosal glycan foraging enhances fitness and transmission of a saccharolytic human gut bacterial symbiont / E.C. Martens, H.C. Chiang, J.I. Gordon // *Cell Host & Microbe*. - 2008. - Vol. 4, № 5. - P. 447-457.
267. Ng, K.M. et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens / K.M. Ng et al. // *Nature*. - 2013. - Vol. 502, № 7469. - P. 96-99.
268. Ferreyra, J.A. et al. Gut microbiota-produced succinate promotes *C. difficile* infection after antibiotic treatment or motility disturbance / J.A. Ferreyra et al. // *Cell Host & Microbe*. - 2014. - Vol. 16, № 6. - P. 770-777.
269. Wolff, R.A. et al. Dehydrogenases involved in the conversion of succinate to 4-hydroxybutanoate by *Clostridium luyveri* / R.A. Wolff et al. // *Applied and Environmental Microbiology*. - 1993. - Vol. 59, № 6. - P. 1876-1882.
270. Donia, M.S. et al. A systematic analysis of biosynthetic gene clusters in the human microbiome reveals a common family of antibiotics / M.S. Donia et al. // *Cell*. - 2014. - Vol. 158, № 6. - P. 1402-1414.
271. Egan, K. et al. Bacteriocins: Novel Solutions to Age Old Spore-Related Problems? / K. Egan et al. // *Frontiers in Microbiology*. - 2016. - Vol. 7.
272. Hegarty, J.W. et al. Bacteriocin production: a relatively unharnessed probiotic trait? / J.W. Hegarty et al. // *F1000Research*. - 2016. - Vol. 5.
273. Mathur, H. et al. Bacteriocin-Antimicrobial Synergy: A Medical and Food Perspective / H. Mathur et al. // *Frontiers in Microbiology*. - 2017. - Vol. 8.

274. Vassiliadis, G. et al. Isolation and Characterization of Two Members of the Siderophore-Microcin Family, Microcins M and H47 / G. Vassiliadis et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2010. - Vol. 54, № 1. - P. 288-297.
275. Sassone-Corsi, M. et al. Microcins mediate competition among Enterobacteriaceae in the inflamed gut / M. Sassone-Corsi et al. // *Nature*. - 2016. - Vol. 540, № 7632. - P. 280-283.
276. Russell, A.B. Peterson, S.B. Mougous, J.D. Type VI secretion effectors: poisons with a purpose / A.B. Russell, S.B. Peterson, J.D. Mougous // *Nature reviews. Microbiology*. - 2014. - Vol. 12, № 2. - P. 137-148.
277. Russell, A.B. et al. Type VI secretion delivers bacteriolytic effectors to target cells / A.B. Russell et al. // *Nature*. - 2011. - Vol. 475, № 7356. - P. 343-347.
278. Gunasinghe, S.D. et al. Super-Resolution Imaging of Protein Secretion Systems and the Cell Surface of Gram-Negative Bacteria / S.D. Gunasinghe et al. // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. - 2017. - Vol. 7,.
279. Blondel, C.J. et al. Comparative genomic analysis uncovers 3 novel loci encoding type six secretion systems differentially distributed in Salmonella serotypes / C.J. Blondel et al. // *BMC Genomics*. - 2009. - Vol. 10, -P. 354.
280. Gueguen, E. & Cascales, E. Promoter Swapping Unveils the Role of the Citrobacter rodentium CTS1 Type VI Secretion System in Interbacterial Competition / E. Gueguen, E. Cascales // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2013. - Vol. 79, № 1. - P. 32-38.
281. Suarez, G. et al. Molecular Characterization of a Functional Type VI Secretion System from a Clinical Isolate of *Aeromonas hydrophila* / G. Suarez et al. // *Microbial pathogenesis*. - 2008. - Vol. 44, № 4. - P. 344-361.
282. Brunet, Y.R. et al. H-NS Silencing of the Salmonella Pathogenicity Island 6-Encoded Type VI Secretion System Limits Salmonella enterica Serovar Typhimurium Interbacterial Killing / Y.R. Brunet et al. // *Infection and Immunity*. - 2015. - Vol. 83, № 7. - P. 2738-2750.
283. Coyne, M.J. Roelofs, K.G. & Comstock, L.E. Type VI secretion systems of human gut Bacteroidales segregate into three genetic architectures, two of which are contained on mobile genetic elements / M.J. Coyne, K.G. Roelofs, L.E. Comstock // *BMC Genomics*. - 2016. - Vol. 17,.
284. Hooper, L.V. Littman, D.R. Macpherson, A.J. Interactions between the microbiota and the immune system / L.V. Hooper, D.R. Littman, A.J. Macpherson // *Science (New York, N.Y.)*. - 2012. - Vol. 336, № 6086. - P. 1268-1273.
285. Mihajlovic, M. Lazaridis, T. Antimicrobial peptides bind more strongly to membrane pores / M. Mihajlovic, T. Lazaridis // *Biochimica et biophysica acta*. - 2010. - Vol. 1798, № 8. - P. 1494-1502.
286. Brogden, N.K. Brogden, K.A. Will new generations of modified antimicrobial peptides improve their potential as pharmaceuticals? / N.K. Brogden, K.A. Brogden // *International journal of antimicrobial agents*. - 2011. - Vol. 38, № 3. - P. 217-225.
287. Mukherjee, S. et al. Antibacterial membrane attack by a pore-forming intestinal C-type lectin / S. Mukherjee et al. // *Nature*. - 2014. - Vol. 505, № 7481. - P. 103-107.
288. Brandl, K. et al. MyD88-mediated signals induce the bactericidal lectin RegUI gamma and protect mice against intestinal *Listeria monocytogenes* infection / K. Brandl et al. // *The Journal of Experimental Medicine*. - 2007. - Vol. 204, W 8. - P. 1891-1900.
289. Tai, K.P. et al. Microbicidal effects of alpha- and delta-defensins against antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* / K.P. Tai et al. // *Innate immunity*. - 2015. - Vol. 21, № 1. - P. 17-29.
290. Putsep, K. et al. Germ-free and colonized mice generate the same products from enteric prodefensins / K. Putsep et al. // *The Journal of Biological Chemistry*. - 2000. - Vol. 275, № 51. - P. 40478-40482,
291. Hooper, L.V. et al. Angiogenins: a new class of microbicidal proteins involved in innate immunity / L.V. Hooper et al. // *Nature Immunology*. - 2003. - Vol. 4, Na 3. - P. 269-273.

*Микробиом человека*

292. Jarchum, I. et al. Critical role for MyD88-mediated neutrophil recruitment during *Clostridium difficile* colitis / I. Jarchum et al. // *Infection and Immunity*. - 2012. - Vol. 80, № 9. - P. 2989-2996.
293. Levy, S.B. et al. High frequency of antimicrobial resistance in human fecal flora. / S.B. Levy et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 1988. - Vol. 32, № 12. - P. 1801-1806.
294. Sommer, M.O.A. Dantas, G. & Church, G.M. Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora / M.O. A. Sommer, G. Dantas, G.M. Church // *Science (New York, N.Y.)*. - 2009. - Vol. 325, № 5944. - P. 1128-1131.
295. Santiago-Rodriguez, T.M. et al. Gut Microbiome of an 11th Century A.D. Pre-Columbian Andean Mummy / T.M. Santiago-Rodriguez et al. // *PloS One*. - 2015. - Vol. 10, № 9. - P. E0138135.
296. D'Costa, V.M. et al. Antibiotic resistance is ancient / V.M. D'Costa et al. // *Nature*. - 2011. - Vol. 477, № 7365. - P. 457-461.
297. Bhullar, K. et al. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome / K. Bhullar et al. // *PloS One*. - 2012. - Vol. 7, № 4. - P. E34953.
298. Moore, A.M. et al. Gut resistome development in healthy twin pairs in the first year of life / A.M. Moore et al. // *Microbiome*. - 2015. - Vol. 3, - P. 27.
299. Lu, N. et al. DNA microarray analysis reveals that antibiotic resistance-gene diversity in human gut microbiota is age related / N. Lu et al. // *Scientific Reports*. - 2014. - Vol. 4,.
300. Beaber, J.W. Hochhut, B. & Waldor, M.K. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes / J.W. Beaber, B. Hochhut, M.K. Waldor // *Nature*. - 2004. - Vol. 427, № 6969. - P. 72-74.
301. Slager, J. et al. Antibiotic-induced replication stress triggers bacterial competence by increasing gene dosage near the origin / J. Slager et al. // *Cell*. - 2014. - Vol. 157, № 2. - P. 395-406.
302. Modi, S.R. et al. Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome / S.R. Modi et al. // *Nature*. - 2013. - Vol. 499, № 7457. - P. 219-222.
303. Lawani, M.B. & Morris, A. The respiratory microbiome of HIV-infected individuals / M.B. Lawani, A. Morris // *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. - 2016. - Vol. 14, № 8. - P. 719-729.
304. Lanaspá, M. et al. Respiratory microbiota and lower respiratory tract disease / M. Lanaspá et al. // *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. - 2017. - Vol. 15, № 7. - P. 703-711.
305. Romano-Keeler, J. & Weitkamp, J.-H. Maternal influences on fetal microbial colonization and immune development / J. Romano-Keeler, J.-H. Weitkamp // *Pediatric Research*. - 2015. - Vol. 77, № 1-2. - P. 189-195.
306. Stinson, L.F. Payne, M.S. & Keelan, J.A. Planting the seed: Origins, composition, and postnatal health significance of the fetal gastrointestinal microbiota / L.F. Stinson, M.S. Payne, J.A. Keelan // *Critical Reviews in Microbiology*. - 2017. - Vol. 43, № 3. - P. 352-369.
307. Zhou, Y. et al. Exploration of bacterial community classes in major human habitats IY. Zhou et al. // *Genome Biology*. - 2014. - Vol. 15, № 5. - P. R66.
308. Bogaert, D. et al. Variability and diversity of nasopharyngeal microbiota in children: a metagenomic analysis / D. Bogaert et al. // *PloS One*. - 2011. - Vol. 6, № 2. - P. E17035.
309. Perez-Losada, M. et al. Nasopharyngeal Microbiome Diversity Changes over Time in Children with Asthma / M. Perez-Losada et al. // *PloS One*. - 2017. - Vol. 12, № 1. - P. E0170543.
310. de Steenhuijsen Piters, W.A.A. Sanders, E.A.M. & Bogaert, D. The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease / W.A.A. de Steenhuijsen Piters, E.A.M. Sanders, D. Bogaert // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. - 2015. - Vol. 370, № 1675.
311. Teo, S.M. et al. The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development / S.M. Teo et al. // *Cell Host & Microbe*. - 2015. - Vol. 17, № 5. - P. 704-715.

312. Biesbroek, G. et al. The impact of breastfeeding on nasopharyngeal microbial communities in infants / G. Biesbroek et al. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. - 2014. - Vol. 190, № 3. - P. 298-308.
313. Stearns, J.C. et al. Culture and molecular-based profiles show shifts in bacterial communities of the upper respiratory tract that occur with age / J.C. Stearns et al. // *The ISME Journal*. - 2015. - Vol. 9, № 5. - P. 1268.
314. Allen, E.K. et al. Characterization of the nasopharyngeal microbiota in health and during rhinovirus challenge / E.K. Allen et al. // *Microbiome*. - 2014. - Vol. 2, - P. 22.
315. Crielaard, W. et al. Exploring the oral microbiota of children at various developmental stages of their dentition in the relation to their oral health / W. Crielaard et al. // *BMC Medical Genomics*. - 2011. - Vol. 4, - P. 22.
316. Zaura, E. et al. Acquiring and maintaining a normal oral microbiome: current perspective / E. Zaura et al. // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. - 2014. - Vol. 4, - P. 85.
317. Segata, N. et al. Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples / N. Segata et al. // *Genome Biology*. - 2012. - Vol. 13, № 6. - P. R42.
318. Gong, H. et al. Microbiota in the Throat and Risk Factors for Laryngeal Carcinoma / H. Gong et al. // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2014. - Vol. 80, № 23. - P. 7356-7363.
319. Belkaid, Y. & Fland, T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation / Y. Belkaid, T.W. Hand // *Cell*. - 2014. - Vol. 157, № 1. - P. 121-141.
320. Man, W.H. de Steenhuijsen Piters, W.A.A. & Bogaert, D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health / W.H. Man, W.A.A. de Steenhuijsen Piters, D. Bogaert // *Nature Reviews. Microbiology*. - 2017. - Vol. 15, № 5. - P. 259-270.
321. Olszak, T. et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function / T. Olszak et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2012. - Vol. 336, № 6080. - P. 489-493.
322. Charlson, E.S. et al. Assessing bacterial populations in the lung by replicate analysis of samples from the upper and lower respiratory tracts / E.S. Charlson et al. // *PLoS One*. - 2012. - Vol. 7, № 9. - P. E42786.
323. Charlson, E.S. et al. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract / E.S. Charlson et al. // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. - 2011. - Vol. 184, № 8. - P. 957-963.
324. Bassis, C.M. et al. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals / C.M. Bassis et al. // *mBio*. - 2015. - Vol. 6, № 2. - P. E00037.
325. Erb-Downward, J.R. et al. Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD / J.R. Erb-Downward et al. // *PLoS One*. - 2011. - Vol. 6, № 2. - P. E16384.
326. Marsh, R.L. et al. The microbiota in bronchoalveolar lavage from young children with chronic lung disease includes taxa present in both the oropharynx and nasopharynx / R.L. Marsh et al. // *Microbiome*. - 2016. - Vol. 4, № 1. - P. 37.
327. Segal, L.N. et al. Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation / L.N. Segal et al. // *Microbiome*. - 2013. - Vol. 1, - P. 19.
328. Gauguet, S. et al. Intestinal Microbiota of Mice Influences Resistance to *Staphylococcus aureus* Pneumonia / S. Gauguet et al. // *Infection and Immunity*. - 2015. - Vol. 83, № 10. - P. 4003-4014.
329. Wang, H. et al. *Mycoplasma pneumoniae* and *Streptococcus pneumoniae* caused different microbial structure and correlation network in lung microbiota / H. Wang et al. // *Journal of Thoracic Disease*. - 2016. - Vol. 8, № 6. - P. 1316-1322.
330. Zakharkina, T. et al. The dynamics of the pulmonary microbiome during mechanical ventilation in the intensive care unit and the association with occurrence of pneumonia / T. Zakharkina et al. // *Thorax*. - 2017. - Vol. 72, № 9. - P. 803-810.

ftJP

T<sup>e</sup>W<sub>i</sub>

J

331. Kelly, B.J. et al. Composition and dynamics of the respiratory tract microbiome in intubated patients / B.J. Kelly et al. // *Microbiome*. - 2016. - Vol. 4, - P. 7.
332. Dickson, R.P. Erb-Downward, J.R. & Huffnagle, G.B. Towards an ecology of the lung: new conceptual models of pulmonary microbiology and pneumonia pathogenesis / R.P. Dickson, J.R. Erb-Downward, G.B. Huffnagle // *Hie Lancet. Respiratory Medicine*. - 2014. - Vol. 2, № 3. - P. 238-246.
333. Lu, W. et al. Increased constituent ratios of *Klebsiella* sp., *Acinetobacter* sp., and *Streptococcus* sp. and a decrease in microflora diversity maybe indicators of ventilator-associated pneumonia: a prospective study in the respiratory tracts of neonates / W. Lu et al. // *PloS One*. - 2014. - Vol. 9, № 2. - P. E87504.
334. Lu, H. et al. Alterations of *Bacteroides* sp., *Neisseria* sp., *Actinomyces* sp., and *Streptococcus* sp. populations in the oropharyngeal microbiome are associated with liver cirrhosis and pneumonia / H. Lu et al. // *BMC infectious diseases*. - 2015. - Vol. 15, - P. 239.
335. de Steenhuijsen Piters, W.A.A. et al. Dysbiosis of upper respiratory tract microbiota in elderly pneumonia patients / W.A.A. de Steenhuijsen Piters et al. // *The ISME Journal*. - 2016. - Vol. 10, № 1. - P. 97-108.
336. Schuijt, T.J. et al. The gut microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia / T.J. Schuijt et al. // *Gut*. - 2016. - Vol. 65, № 4. - P. 575-583.
337. Dickson, R.P. & Cox, M.J. Letter to the editor of *Gut* / R.P. Dickson, M.J. Cox // *Gut*. - 2017. - Vol. 66, № 2. - P. 384.
338. Lankelma, J.M. Schuijt, T.J. & Wiersinga, W.J. Reply to letter to the editor of *Gut* by Dickson and Cox / J.M. Lankelma, T.J. Schuijt, W.J. Wiersinga // *Gut*. - 2017. - Vol. 66, № 3. - P. 556.
339. Haak, B.W. et al. Impact of gut colonization with butyrate-producing microbiota on respiratory viral infection following allo-HCT / B.W. Haak et al. // *Blood*. - 2018. - Vol. 131, № 26. - P. 2978-2986.
340. National Botulism Surveillance | Botulism | CDC [Электронный ресурс]. - 2018. - - 2018. - Режим доступа: <https://mvw.cdc.gov/botulism/surveillance.html>. - Дата доступа: 05.08.2018,
341. Sobel, J. Botulism / J. Sobel // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2005. - Vol. 41, № 8. - P. 1167-1173.
342. Parameswaran, L. et al. A Case of Adult Intestinal Toxemia Botulism During Prolonged Hospitalization in an Allogeneic Hematopoietic Cell Transplant Recipient / L. Parameswaran et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 2017. - Vol. 66, № Suppl\_1. - P. S99-S102.
343. McCroskey, L.M. & Hatheway, C.L. Laboratory findings in four cases of adult botulism suggest colonization of the intestinal tract / L.M. McCroskey, C.L. Hatheway // *Journal of Clinical Microbiology*. - 1988. - Vol. 26, № 5. - P. 1052-1054.
344. Fenicia, L. et al. Intestinal toxemia botulism in two young people, caused by *Clostridium butyricum* type E / L. Fenicia et al. // *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. - 1999. - Vol. 29, № 6. - P. 1381-1387.
345. Chia, J.K. et al. Botulism in an adult associated with food-borne intestinal infection with *Clostridium botulinum* / J.K. Chia et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 1986. - Vol. 315, № 4. - P. 239-241.
346. Sheppard, Y.D. et al. Intestinal toxemia botulism in 3 adults, Ontario, Canada, 2006-2008 / Y.D. Sheppard et al. // *Emerging Infectious Diseases*. - 2012. - Vol. 18, № 1. - P. 1-6.
347. Shen, W.P. et al. Development of infant botulism in a 3-year-old female with neuroblastoma following autologous bone marrow transplantation: potential use of human botulism immune globulin / W.P. Shen et al. // *Bone Marrow Transplantation*. - 1994. - Vol. 13, № 3. - P. 345-347.
348. Burr, D.H. & Sugiyama, H. Susceptibility to enteric botulinum colonization of antibiotic-treated adult mice / D.H. Burr, H. Sugiyama // *Infection and Immunity*. - 1982. - Vol. 36, № 1. - P. 103-106.
349. Magistro, G. & Stief, C.G. The Urinary Tract Microbiome: The Answer to All Our Open Questions? / G. Magistro, C.G. Stief // *European Urology Focus*, - 2018. - .

350. Bonkat, G. et al. EAU guidelines on urological infections / G. Bonkat et al. // - P. 23.  
Koves, B. et al. Benefits and Harms of Treatment of Asymptomatic Bacteriuria: A Systematic Review and  
351. Meta-analysis by the European Association of Urology Urological Infection Guidelines Panel / B. Koves  
et al. // *European Urology*. - 2017. - Vol. 72, № 6. - P. 865-868.
- Hilt, E.E. et al. Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial  
352. flora in the adult female bladder / E.E. Hilt et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. - 2014. - Vol. 52,  
' № 3. - P. 871-876.
- Siddiqui, H. et al. Alterations of microbiota in urine from women with interstitial cystitis / H. Siddiqui  
353. et al. // *BMC microbiology*. - 2012. - Vol. 12, - P. 205.
354. Thomas-White, K.J. et al. Incontinence medication response relates to the female urinary microbiota /  
K.J. Thomas-White et al. // *International Urogynecology Journal*. - 2016. - Vol. 27, № 5. - P. 723-733.
355. Nickel, J.C. et al. Search for Microorganisms in Men with Urologic Chronic Pelvic Pain Syndrome: A  
Culture-Independent Analysis in the MAPP Research Network / J.C Nickel et al. // *The Journal of Urol-*  
ogy. - 2015. - Vol. 194, № 1. - P. 127-135.
356. Darbro, B.W. Petroelje, B.K. Doern, G.V. *Lactobacillus delbrueckii* as the cause of urinary tract infec-  
tion / B.W. Darbro, B.K. Petroelje, G.V. Doern // *Journal of Clinical Microbiology*. - 2009. - Vol. 47, №  
1. - P. 275-277.
357. Maskell, R. Pead, L. Sanderson, R.A. Fastidious bacteria and the urethral syndrome: a 2-year clinical  
and bacteriological study of 51 women / R. Maskell, L. Pead, R.A. Sanderson // *Lancet (London, En-*  
gland). - 1983. - Vol. 2, № 8362. - P. 1277-1280.
358. Pearce, M.M. et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency  
urinary incontinence / M.M. Pearce et al. // *mBio*. - 2014. - Vol. 5, № 4. - P. E01283-01214.
359. Karstens, L. et al. Does the Urinary Microbiome Play a Role in Urgency Urinary Incontinence and Its  
Severity? / L. Karstens et al. // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. - 2016. - Vol. 6, - P. 78.
- Eiseman, B. et al. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis / B.  
360. Eiseman et al. // *Surgery*. - 1958. - Vol. 44, № 5. - P. 854-859.
- Gough, E. Shaikh, H. Manges, A.R. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal  
bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection / E. Gough, H. Shaikh, A.R. Manges //  
*Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*. -  
2011. - Vol. 53, № 10. - P. 994-1002.
362. Kassam, Z. et al. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: systematic review  
and meta-analysis / Z. Kassam et al. // *The American Journal of Gastroenterology*. - 2013. - Vol. 108, №  
4. - P. 500-508.
363. Hamilton, M.J. et al. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recur-  
rent *Clostridium difficile* infection / M.J. Hamilton et al. // *The American Journal of Gastroenterology*.  
- 2012. - Vol. 107, № 5. - P. 761-767.
364. Brandt, L.J. Aroniadis, O.C. An overview of fecal microbiota transplantation: techniques, indications,  
and outcomes / L.J. Brandt, O.C. Aroniadis // *Gastrointestinal Endoscopy*. - 2013. - Vol. 78, № 2. - P.  
240-249.
365. Borgia, G. et al. Fecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection: back to the future /  
G. Borgia et al. // *Expert Opinion on Biological Therapy*. - 2015. - Vol. 15, № 7. - P. 1001-1014.
366. Pamer, E.G. Fecal microbiota transplantation: effectiveness, complexities, and lingering concerns / E.G.  
Pamer // *Mucosal Immunology*. - 2014. - Vol. 7, № 2. - P. 210-214.
367. Ubeda, C. et al. Intestinal microbiota containing *Barnesiella* species cures vancomycin-resistant *En-*  
*terococcus faecium* colonization / C. Ubeda et al. // *Infection and Immunity*. - 2013. - Vol. 81, № 3. - P.  
965-973.
368. Голошапов, О.В. и соавт. Первый опыт терапии полирезистентных инфекционных осложнений,  
ассоциированных с *Clostridium difficile* и *Klebsiella pneumoniae*, методом трансплантации

*Микробиом человека*

- фекальной микробиоты у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток / О.В. Голощапов и соавт. // *Инфекционные Болезни*. - 2017. - Vol. 15, № 3. - P. 65-74.
369. Лобзин, Ю.В. и соавт. Дисбаланс кишечной микробиоты как фактор риска кардиометаболических заболеваний / Ю.В. Лобзин и соавт. // *Журнал инфектологш*. - 2014. - Vol. 6, № 4. - P. 5-12.
370. Thorburn, A.N. Macia, L. & Mackay, C.R. Diet, metabolites, and "western-lifestyle" inflammatory diseases / A.N. Thorburn, L. Macia, C.R. Mackay // *Immunity*. - 2014. - Vol 40, № 6. - P. 833-842.
371. Turnbaugh, P.J. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest / P.J. Turnbaugh et al. // *Nature*. - 2006. - Vol. 444, № 7122. - P. 1027-1031.
372. Koeth, R.A. et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis / R.A. Koeth et al. // *Nature Medicine*. - 2013. - Vol. 19, № 5. - P. 576-585.
373. Vrieze, A. et al. Transfer of intestinal microbiota from lean donors increases insulin sensitivity in individuals with metabolic syndrome / A. Vrieze et al. // *Gastroenterology*. - 2012. - Vol. 143, № 4. - P. 913-916.e7.
374. Zhang, X. et al. Structural changes of gut microbiota during berberine-mediated prevention of obesity and insulin resistance in high-fat diet-fed rats / X. Zhang et al. // *PloS One*. - 2012. - Vol. 7, № 8. - P. E42529.
375. Udayappan, S.D. et al. Intestinal microbiota and faecal transplantation as treatment modality for insulin resistance and type 2 diabetes mellitus / S.D. Udayappan et al. // *Clinical and Experimental Immunology*. - 2014. - Vol. 177, № 1. - P. 24-29.
376. Round, J.L. & Mazmanian, S.K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease / J.L. Round, S.K. Mazmanian // *Nature Reviews. Immunology*. - 2009. - Vol. 9, № 5. - P. 313-323.
377. Round, J.L. et al. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota / J.L. Round et al. // *Science (New York, N.Y.)*. - 2011. - Vol. 332, № 6032. - P. 974-977.
378. Arnold, I.C. et al. Helicobacter pylori infection prevents allergic asthma in mouse models through the induction of regulatory T cells / I.C. Arnold et al. // *The Journal of Clinical Investigation*. - 2011. - Vol. 121, № 8. - P. 3088-3093.
379. Ley, R.E. Obesity and the human microbiome / R.E. Ley // *Current Opinion in Gastroenterology*. - 2010. - Vol. 26, № 1. - P. 5-11.
380. Pflughoeft, K.J. & Versalovic, J. Human microbiome in health and disease / K.J. Pflughoeft, J. Versalovic // *Annual Review of Pathology*. - 2012. - Vol. 7. - P. 99-122.
381. Sartor, R.B. & Wu, G.D. Roles for Intestinal Bacteria, Viruses, and Fungi in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Therapeutic Approaches / R.B. Sartor, G.D. Wu // *Gastroenterology*. - 2017. - Vol. 152, № 2. - P. 327-339.e4.
382. Dicksved, J. et al. Molecular analysis of the gut microbiota of identical twins with Crohn's disease / J. Dicksved et al. // *The ISME Journal*. - 2008. - Vol. 2, № 7. - P. 716-727.
383. Spor, A. Koren, O. & Ley, R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome / A. Spor, O. Koren, R. Ley // *Nature Reviews. Microbiology*. - 2011. - Vol. 9, № 4. - P. 279-290.
384. Vitarius, J.A. The metabolic syndrome and cardiovascular disease / J.A. Vitarius // *The Mount Sinai Journal of Medicine, New York*. - 2005. - Vol. 72, № 4. - P. 257-262.
385. Baltali, M. et al. Association between the metabolic syndrome and newly diagnosed coronary artery disease / M. Baltali et al. // *Diabetes, Nutrition & Metabolism*. - 2003. - Vol. 16, № 3. - P. 169-175.
386. Suez, J. et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota / J. Suez et al. // *Nature*. - 2014. - Vol. 514, № 7521. - P. 181-186.



387. Zeevi, D. et al. Personalized Nutrition by Prediction of Glycemic Responses / D. Zeevi et al. // *Cell*. - 2015. - Vol. 163, № 5. - P. 1079-1094.
388. Karlsson, F.H. et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control / E.H. Karlsson et al. // *Nature*. - 2013. - Vol. 498, № 7452. - P. 99-103.
389. Qin, J. et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes / J. Qin et al. // *Nature*. - 2012. - Vol. 490, № 7418. - P. 55-60.
390. Forslund, K. et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota / K. Forslund et al. // *Nature*. - 2015. - Vol. 528, № 7581. - P. 262-266.
391. Yoshimoto, S. et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome / S. Yoshimoto et al. // *Nature*. - 2013. - Vol. 499, № 7456. - P. 97-101.
392. Belcheva, A. et al. Gut microbial metabolism drives transformation of MSH2-deficient colon epithelial cells / A. Belcheva et al. // *Cell*. - 2014. - Vol. 158, № 2. - P. 288-299.
393. Tang, W.H.W. et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk / W.H.W. Tang et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 2013. - Vol. 368, № 17. - P. 1575-1584.
394. Wang, Z. et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease / Z. Wang et al. // *Nature*. - 2011. - Vol. 472, № 7341. - P. 57-63.
395. Wang, Z. et al. Non-lethal Inhibition of Gut Microbial Trimethylamine Production for the Treatment of Atherosclerosis / Z. Wang et al. // *Cell*. - 2015. - Vol. 163, № 7. - P. 1585-1595.
396. Puddu, A. et al. Evidence for the Gut Microbiota Short-Chain Fatty Acids as Key Pathophysiological Molecules Improving Diabetes / A. Puddu et al. // *Mediators of Inflammation*. - 2014. - Vol. 2014, .
397. Cho, I. & Blaser, M.J. The human microbiome: at the interface of health and disease / I. Cho, M.J. Blaser // *Nature Reviews. Genetics*. - 2012. - Vol. 13, № 4. - P. 260-270.
398. de Vos, W.M. & de Vos, E.A.J. Role of the intestinal microbiome in health and disease: from correlation to causation / W.M. de Vos, E.A.J. de Vos // *Nutrition Reviews*. - 2012. - Vol. 70 Suppl 1, - P. S45-56.
399. Al-Lahham, S.H. et al. Regulation of adipokine production in human adipose tissue by propionic acid / S.H. Al-Lahham et al. // *European Journal of Clinical Investigation*. - 2010. - Vol. 40, № 5. - P. 401-407.
400. Xiong, Y. et al. Short-chain fatty acids stimulate leptin production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41 / Y. Xiong et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2004. - Vol. 101, № 4. - P. 1045-1050.
401. Mortensen, P.B. & Clausen, M.R. Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease / P.B. Mortensen, M.R. Clausen // *Scandinavian Journal of Gastroenterology. Supplement*. - 1996. - Vol. 216, - P. 132-148.
402. Zaibi, M.S. et al. Roles of GPR41 and GPR43 in leptin secretory responses of murine adipocytes to short chain fatty acids / M.S. Zaibi et al. // *FEBS letters*. - 2010. - Vol. 584, № 11. - P. 2381-2386.
403. Remely, M. et al. Effects of short chain fatty acid producing bacteria on epigenetic regulation of FFAR3 in type 2 diabetes and obesity / M. Reraely et al. // *Gene*. - 2014. - Vol. 537, № 1. - P. 85-92.
404. Mayer, E.A. Tillisch, K. & Gupta, A. Gut/brain axis and the microbiota / E.A. Mayer, K. Tillisch, A. Gupta // *The Journal of Clinical Investigation*. - 2015. - Vol. 125, № 3. - P. 926-938.
405. Mayer, E.A. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication / E.A. Mayer // *Nature Reviews. Neuroscience*. - 2011. - Vol. 12, № 8. - P. 453-466.
406. Rhee, S.H. Pothoulakis, C. & Mayer, E.A. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis / S.H. Rhee, C. Pothoulakis, E.A. Mayer // *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*. - 2009. - Vol. 6, № 5. - P. 306-314.
407. Mayer, E.A. Padua, D. & Tillisch, K. Altered brain-gut axis in autism: comorbidity or causative mechanisms? / E.A. Mayer, D. Padua, K. Tillisch // *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*. - 2014. - Vol. 36, № 10. - P. 933-939.

408. Cryan, J.E. & Dinan, T.G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour / J.E. Cryan, T.G. Dinan // *Nature Reviews. Neuroscience*. - 2012. - Vol. 13, № 10. - P. 701-712.
409. Park, A.J. et al. Altered colonic function and microbiota profile in a mouse model of chronic depression / A.J. Park et al. // *Neurogastroenterology and Motility: The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*. - 2013. - Vol. 25, № 9. - P. 733-E575.
410. Amaral, E.A. et al. Commensal microbiota is fundamental for the development of inflammatory pain / F.A. Amaral et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2008. - Vol. 105, № 6. - P. 2193-2197.
411. Thaiss, C.A. et al. A day in the life of the meta-organism: diurnal rhythms of the intestinal microbiome and its host / C.A. Thaiss et al. // *Gut Microbes*. - 2015. - Vol. 6, № 2. - P. 137-142.
412. Clarke, G. et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner / G. Clarke et al. // *Molecular Psychiatry*. - 2013. - Vol. 18, № 6. - P. 666-673.
413. Bravo, J.A. et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve / J.A. Bravo et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2011. - Vol. 108, № 38. - P. 16050-16055.
414. Klein, L.C. & Corwin, E.J. Seeing the unexpected: how sex differences in stress responses may provide a new perspective on the manifestation of psychiatric disorders / L.C. Klein, E.J. Corwin // *Current Psychiatry Reports*. - 2002. - Vol. 4, № 6. - P. 441-448.
415. Vesga-Lopez, O. et al. Gender differences in generalized anxiety disorder: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC) / O. Vesga-Lopez et al. // *The Journal of Clinical Psychiatry*. - 2008. - Vol. 69, № 10. - P. 1606-1616.
416. Kornstein, S.G. et al. Gender differences in presentation of chronic major depression / S.G. Kornstein et al. // *Psychopharmacology Bulletin*. - 1995. - Vol. 31, № 4. - P. 711-718.
417. Li, W. et al. Memory and learning behavior in mice is temporally associated with diet-induced alterations in gut bacteria / W. Li et al. // *Physiology & Behavior*. - 2009. - Vol. 96, № 4-5. - P. 557-567.
418. Gareau, M.G. et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice / M.G. Gareau et al. // *Gut*. - 2011. - Vol. 60, № 3. - P. 307-317.
419. Bennet, R. Eriksson, M. & Nord, C.E. The fecal microflora of 1-3-month-old infants during treatment with eight oral antibiotics / R. Bennet, M. Eriksson, C.E. Nord // *Infection*. - 2002. - Vol. 30, № 3. - P. 158-160.
420. Adams, J.B. et al. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity / J.B. Adams et al. // *BMC gastroenterology*. - 2011. - Vol. 11. - P. 22.
421. Song, Y. Liu, C. & Finegold, S.M. Real-time PCR quantitation of *Clostridia* in feces of autistic children / Y. Song, C. Liu, S.M. Finegold // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2004. - Vol. 70, № 11. - P. 6459-6465.
422. Finegold, S.M. et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children / S.M. Finegold et al. // *Anaerobe*. - 2010. - Vol. 16, № 4. - P. 444-453.
423. Parracho, H.M.R.T. et al. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children / H.M.R.T. Parracho et al. // *Journal of Medical Microbiology*. - 2005. - Vol. 54, № Pt 10. - P. 987-991.
424. Williams, B.L. et al. Application of novel PCR-based methods for detection, quantitation, and phylogenetic characterization of *Sutterella* species in intestinal biopsy samples from children with autism and gastrointestinal disturbances / B.L. Williams et al. // *mBio*. - 2012. - Vol. 3, № 1.
425. Roh, Y.S. & Seki, E. Toll-like receptors in alcoholic liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and carcinogenesis / Y.S. Roh, E. Seki // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. - 2013. - Vol. 28 Suppl 1. - P. 38-42.

426. Mineraura, M. & Shimizu, Y. Gut microbiota and liver diseases / M. Minemura, Y. Shimizu // *World Journal of Gastroenterology: WJG*. - 2015. - Vol. 21, № 6. - P. 1691-1702.
427. Seo, Y.S. & Shah, V.H. The role of gut-liver axis in the pathogenesis of liver cirrhosis and portal hypertension / Y.S. Seo, V.H. Shah // *Clinical and Molecular Hepatology*. - 2012. - Vol. 18, № 4. - P. 337-346.
428. Quigley, E.M.M. Stanton, C. & Murphy, E.F. The gut microbiota and the liver. Pathophysiological and clinical implications / E.M.M. Quigley, C. Stanton, E.F. Murphy // *Journal of Hepatology*. - 2013. - Vol. 58, № 5. - P. 1020-1027.
429. Imajo, K. et al. Hyperresponsivity to low-dose endotoxin during progression to nonalcoholic steatohepatitis is regulated by leptin-mediated signaling / K. Imajo et al. // *Cell Metabolism*. - 2012. - Vol. 16, № 1. - P. 44-54.
430. Chen, Y. et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis / Y. Chen et al. // *Hepatology (Baltimore, Md.)*. - 2011. - Vol. 54, № 2. - P. 562-572.
431. Lu, H. et al. Intestinal microbiota was assessed in cirrhotic patients with hepatitis B virus infection. Intestinal microbiota of HBV cirrhotic patients / H. Lu et al. // *Microbial Ecology*. - 2011. - Vol. 61, № 3. - P. 693-703.
432. Qin, N. et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis / N. Qin et al. // *Nature*. - 2014. - Vol. 513, № 7516. - P. 59-64.
433. Fukui, H. et al. Plasma endotoxin concentrations in patients with alcoholic and non-alcoholic liver disease: reevaluation with an improved chromogenic assay / H. Fukui et al. // *Journal of Hepatology*. - 1991. - Vol. 12, № 2. - P. 162-169.
434. Rivera, C.A. et al. Role of endotoxin in the hypermetabolic state after acute ethanol exposure / C.A. Rivera et al. // *The American Journal of Physiology*. - 1998. - Vol. 275, № 6 Pt 1. - P. G1252-1258.
435. Tuomisto, S. et al. Changes in gut bacterial populations and their translocation into liver and ascites in alcoholic liver cirrhotics / S. Tuomisto et al. // *BMC gastroenterology*. - 2014. - Vol. 14, - P. 40.
436. Bajaj, J.S. et al. Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy / J.S. Bajaj et al. // *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, - 2012. - Vol. 302, № 1. - P. G168-175.
437. Clarke, S.F. et al. The gut microbiota and its relationship to diet and obesity: new insights / S.F. Clarke et al. // *Gut Microbes*. - 2012. - Vol. 3, № 3. - P. 186-202.
438. Sung, J.Y. Shaffer, E.A. & Costerton, J.W. Antibacterial activity of bile salts against common biliary pathogens. Effects of hydrophobicity of the molecule and in the presence of phospholipids / J.Y. Sung, E.A. Shaffer, J.W. Costerton // *Digestive Diseases and Sciences*. - 1993. - Vol. 38, № 11. - P. 2104-2112.
439. Miettinen, T.A. Lipid absorption, bile acids, and cholesterol metabolism in patients with chronic liver disease / T.A. Miettinen // *Gut*. - 1972. - Vol. 13, № 9. - P. 682-689.
440. Gunnarsdottir, S.A. et al. Small intestinal motility disturbances and bacterial overgrowth in patients with liver cirrhosis and portal hypertension / S.A. Gunnarsdottir et al. // *The American Journal of Gastroenterology*. - 2003. - Vol. 98, № 6. - P. 1362-1370.
441. Davalos, A.R. et al. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression / A.R. Davalos et al. // *Cancer Metastasis Reviews*. - 2010. - Vol. 29, № 2. - P. 273-283.
442. Freund, A. et al. Inflammatory networks during cellular senescence: causes and consequences / A. Freund et al. // *Trends in Molecular Medicine*. - 2010. - Vol. 16, № 5. - P. 238-246.
443. Kirkland, J.L. & Tchkonja, T. Cellular Senescence: A Translational Perspective / J.L. Kirkland, T. Tchkonja // *EBioMedicine*. - 2017. - Vol. 21, - P. 21-28.
444. Khosla, S. Farr, J.N. & Kirkland, J.L. Inhibiting Cellular Senescence: A New Therapeutic Paradigm for Age-Related Osteoporosis / S. Khosla, J.N. Farr, J.L. Kirkland // *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. - 2018. - Vol. 103, № 4. - P. 1282-1290.

445. Martin, D.H. et al. The microbiota of the human genitourinary tract: trying to see the forest through the trees / D.H. Martin et al. // *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*. - 2012. - Vol. 123, - P. 242-256.
446. Prince, A.L. et al. The perinatal microbiome and pregnancy: moving beyond the vaginal microbiome / A.L. Prince et al. // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. - 2015. - Vol. 5, № 6.
447. Aagaard, K. et al. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy / K. Aagaard et al. // *PloS One*. - 2012. - Vol. 7, № 6. - P. E36466.
448. Romero, R. et al. Correction: The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women / R. Romero et al. // *Microbiome*. - 2014. - Vol. 2, № 1. - P. 10.
449. Gonçalves, L.R. Chaiworapongsa, T. & Romero, R. Intrauterine infection and prematurity / L.R. Gonçalves, T. Chaiworapongsa, R. Romero // *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews*. - 2002. - Vol. 8, № 1. - P. 3-13.
450. Claud, E.C. & Walker, W.A. Hypothesis: inappropriate colonization of the premature intestine can cause neonatal necrotizing enterocolitis / E.C. Claud, W.A. Walker // *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. - 2001. - Vol. 15, № 8. - P. 1398-1403.
451. Yee, W.H. et al. Incidence and timing of presentation of necrotizing enterocolitis in preterm infants / W.H. Yee et al. // *Pediatrics*. - 2012. - Vol. 129, № 2. - P. E298-304.
452. Miller, E.A. et al. Lactobacilli Dominance and Vaginal pH: Why Is the Human Vaginal Microbiome Unique? / E.A. Miller et al. // *Frontiers in Microbiology*. - 2016. - Vol. 7, - P. 1936.
453. MacIntyre, D.A. et al. The vaginal microbiome during pregnancy and the postpartum period in a European population / D.A. MacIntyre et al. // *Scientific Reports*. - 2015. - Vol. 5, - P. 8988.
454. Ravel, J. et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women / J. Ravel et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2011. - Vol. 108 Suppl 1, - P. 4680-4687.
455. Hillier, S.L. et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group / S.L. Hillier et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 1995. - Vol. 333, № 26. - P. 1737-1742.
456. Hitti, J. et al. Vaginal indicators of amniotic fluid infection in preterm labor / J. Hitti et al. // *Obstetrics and Gynecology*. - 2001. - Vol. 97, № 2. - P. 211-219.
457. Gibbs, R.S. Chorioamnionitis and bacterial vaginosis / R.S. Gibbs // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. - 1993. - Vol. 169, № 2 Pt 2. - P. 460-462.
458. Takei, H. & Ruiz, B. Shift in vaginal flora (bacterial vaginosis) and the frequency of chorioamnionitis in a high-risk population / H. Takei, B. Ruiz // *Acta Cytologica*. - 2006. - Vol. 50, № 4. - P. 410-414.
459. Zhou, X. et al. Differences in the composition of vaginal microbial communities found in healthy Caucasian and black women / X. Zhou et al. // *The ISME journal*. - 2007. - Vol. 1, № 2. - P. 121-133.
460. Hyman, R.W. et al. Diversity of the vaginal microbiome correlates with preterm birth / R.W. Hyman et al. // *Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)*. - 2014. - Vol. 21, № 1. - P. 32-40.
461. Hillier, S.L. et al. A case-control study of chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity / S.L. Hillier et al. // *The New England Journal of Medicine*. - 1988. - Vol. 319, № 15. - P. 972-978.
462. Watts, D.H. et al. The association of occult amniotic fluid infection with gestational age and neonatal outcome among women in preterm labor / D.H. Watts et al. // *Obstetrics and Gynecology*. - 1992. - Vol. 79, № 3. - P. 351-357.
463. Pettker, C.M. et al. Value of placental microbial evaluation in diagnosing intra-amniotic infection / C.M. Pettker et al. // *Obstetrics and Gynecology*. - 2007. - Vol. 109, № 3. - P. 739-749.
464. Buhimschi, C.S. et al. Fetal inflammatory response in women with proteomic biomarkers characteristic of intra-amniotic inflammation and preterm birth / C.S. Buhimschi et al. // *BJOG: an international journal of obstetrics and gynaecology*. - 2009. - Vol. 116, № 2. - P. 257-267.

465. Han, Y.W. et al. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth / Y.W. Han et al. // *Journal of Clinical Microbiology*. - 2009. - Vol. 47, № 1. - P. 38-47.
466. Leviton, A. et al. Microbiologic and histologic characteristics of the extremely preterm infant's placenta predict white matter damage and later cerebral palsy, the ELGAN study / A. Leviton et al. // *Pediatric Research*. - 2010. - Vol. 67, № 1. - P. 95-101.
467. Stout, M.J. et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations / M.J. Stout et al. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. - 2013. - Vol. 208, № 3. - P. 226.e1-7.
468. Combs, C.A. et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes / C.A. Combs et al. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. - 2014. - Vol. 210, № 2. - P. 125.e1-125.e15.
469. Steel, J.H. et al. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor / J.H. Steel et al. // *Pediatric Research*. - 2005. - Vol. 57, № 3. - P. 404-411.
470. Redline, R.W. Villitis of unknown etiology: noninfectious chronic villitis in the placenta / R.W. Redline // *Human Pathology*. - 2007. - Vol. 38, № 10. - P. 1439-1446.
471. Fortner, K.B. et al. Bacteria localization and chorion thinning among preterm premature rupture of membranes / K.B. Fortner et al. // *PloS One*. - 2014. - Vol. 9, № 1. - P. E83338.
472. Han, Y.W. & Wang, X. Mobile microbiome: oral bacteria in extra-oral infections and inflammation / Y.W. Han, X. Wang // *Journal of Dental Research*. - 2013. - Vol. 92, № 6. - P. 485-491.
473. Offenbacher, S. et al. Periodontal Infection as a Possible Risk Factor for Preterm Low Birth Weight / S. Offenbacher et al. // *Journal of Periodontology*. - 1996. - Vol. 67 Suppl 10S. - P. 1103-1113.
474. Goldenberg, R.L. Hauth, J.C. & Andrews, W.W. Intrauterine infection and preterm delivery / R.L. Goldenberg, J.C. Hauth, W.W. Andrews // *The New England Journal of Medicine*. - 2000. - Vol. 342, № 20. - P. 1500-1507.
475. Michalowicz, B.S. et al. Change in periodontitis during pregnancy and the risk of pre-term birth and low birthweight / B.S. Michalowicz et al. // *Journal of Clinical Periodontology*. - 2009. - Vol. 36, № 4. - P. 308-314.
476. Han, Y.W. et al. *Fusobacterium nucleatum* induces premature and term stillbirths in pregnant mice: implication of oral bacteria in preterm birth / Y.W. Han et al. // *Infection and Immunity*. - 2004. - Vol. 72, № 4. - P. 2272-2279.
477. Fardini, Y. et al. Transmission of diverse oral bacteria to murine placenta: evidence for the oral microbiome as a potential source of intrauterine infection / Y. Fardini et al. // *Infection and Immunity*. - 2010. - Vol. 78, № 4. - P. 1789-1796.
478. Katz, J. et al. Localization of *P. gingivalis* in preterm delivery placenta / J. Katz et al. // *Journal of Dental Research*. - 2009. - Vol. 88, № 6. - P. 575-578.
479. Swati, P. et al. Correction to: Simultaneous detection of periodontal pathogens in subgingival plaque and placenta of women with hypertension in pregnancy! / P. Swati et al. // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. - 2018. - Vol. 297, № 3. - P. 813.
480. Romero, R. et al. Infection and labor. V. Prevalence, microbiology, and clinical significance of intraamniotic infection in women with preterm labor and intact membranes / R. Romero et al. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. - 1989. - Vol. 161, № 3. - P. 817-824.
481. Cahill, R.J. et al. Universal DNA primers amplify bacterial DNA from human fetal membranes and link *Fusobacterium nucleatum* with prolonged preterm membrane rupture / R.J. Cahill et al. // *Molecular Human Reproduction*. - 2005. - Vol. 11, № 10. - P. 761-766.
482. Jimenez, E. et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section / E. Jimenez et al. // *Current Microbiology*. - 2005. - Vol. 51, № 4. - P. 270-274.
483. Vael, C. et al. Early intestinal *Bacteroides fragilis* colonisation and development of asthma / C. Vael et al. // *BMC pulmonary medicine*. - 2008. - Vol. 8, - P. 19.

484. Marri, P.R. et al. Asthma-associated differences in microbial composition of induced sputum / P.R. Marri et al. // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. - 2013. - Vol. 131, № 2. - P. 346-352.e1-3.
485. van Woerden, H.C. et al. Differences in fungi present in induced sputum samples from asthma patients and non-atopic controls: a community based case control study / H.C. van Woerden et al. // *BMC infectious diseases*, - 2013. - Vol. 13, - P. 69.
486. Gaitanis, G. et al. The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases / G. Gaitanis et al. // *Clinical Microbiology Reviews*. ~ 2012. - Vol. 25, № 1. - P. 106-141.
487. Lee, S.Y. et al. Microbiome in the Gut-Skin Axis in Atopic Dermatitis / S.Y. Lee et al. // *Allergy, Asthma & Immunology Research*. - 2018. - Vol. 10, № 4. - P. 354-362.
488. Lee, S.-Y. et al. Additive effect between IL-13 polymorphism and cesarean section delivery/prenatal antibiotics use on atopic dermatitis; a birth cohort study (COCOA) / S.-Y. Lee et al. // *PloS One*. - 2014. - Vol. 9, № 5. - P. E96603.
489. Lee, J.-Y. et al. Exposure to gene-environment interactions before 1 year of age may favor the development of atopic dermatitis / J.-Y. Lee et al. // *International Archives of Allergy and Immunology*. - 2012. - Vol. 157, № 4. - P. 363-371.
490. Kim, B.-J. et al. Environmental changes, microbiota, and allergic diseases / B.-J. Kim et al. // *Allergy, Asthma & Immunology Research*. - 2014. - Vol. 6, № 5. - P. 389-400.
491. Al-Asmakh, M. & Zadjali, F. Use of Germ-Free Animal Models in Microbiota-Related Research / M. Al-Asmakh, F. Zadjali // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. - 2015. - Vol. 25, № 10. - P. 1583-1588.
492. Levkovich, T. et al. Probiotic bacteria induce a "glow of health" / T. Levkovich et al. // *PloS One*. - 2013. - Vol. 8, № 1. - P. E53867.
493. Mah, K.W. et al. Distinct pattern of commensal gut microbiota in toddlers with eczema / K.W. Mah et al. // *International Archives of Allergy and Immunology*. - 2006. - Vol. 140, № 2. - P. 157-163.
494. Penders, J. et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study / J. Penders et al. // *Gut*. - 2007. - Vol. 56, № 5. - P. 661-667.
495. Penders, J. et al. Molecular fingerprinting of the intestinal microbiota of infants in whom atopic eczema was or was not developing / J. Penders et al. // *Clinical and Experimental Allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. - 2006. - Vol. 36, № 12. - P. 1602-1608.
496. van Nimwegen, F.A. et al. Mode and place of delivery, gastrointestinal microbiota, and their influence on asthma and atopy / F.A. van Nimwegen et al. // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. - 2011. - Vol. 128, № 5. - P. 948-955.e1-3.
497. Abrahamsson, T.R. et al. Low diversity of the gut microbiota in infants with atopic eczema / T.R. Abrahamsson et al. // *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. - 2012. - Vol. 129, № 2. - P. 434-440.e1-2.
498. Nylund, L. et al. Severity of atopic disease inversely correlates with intestinal microbiota diversity and butyrate-producing bacteria / L. Nylund et al. // *Allergy*. - 2015. - Vol. 70, № 2. - P. 241-244.
499. Abt, M.C. et al. TLR-7 activation enhances IL-22-mediated colonization resistance against vancomycin-resistant enterococcus / M.C. Abt et al. // *Science Translational Medicine*. - 2016. - Vol. 8, № 327. - P. 327ra25.
500. Howe, J.A. et al. Selective small-molecule inhibition of an RNA structural element / J.A. Howe et al. // *Nature*. - 2015. - Vol. 526, № 7575. - P. 672-677.
501. Rea, M.C. et al. Effect of broad- and narrow-spectrum antimicrobials on *Clostridium difficile* and microbial diversity in a model of the distal colon / M.C. Rea et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2011. - Vol. 108, Suppl 1. - P. 4639-4644.
502. Gebhart, D. et al. A modified R-type bacteriocin specifically targeting *Clostridium difficile* prevents colonization of mice without affecting gut microbiota diversity / D. Gebhart et al. // *mBio*. - 2015. - Vol. 6, № 2.

503. Lehar, S.M. et al. Novel antibody-antibiotic conjugate eliminates intracellular *S. aureus* / S.M. Lehar et al. // *Nature*. - 2015. - Vol. 527, № 7578. - P. 323-328.
504. Bikard, D. et al. Exploiting CRISPR-Cas nucleases to produce sequence-specific antimicrobials / D. Bikard et al. // *Nature Biotechnology*. - 2014. - Vol. 32, № 11. - P. 1146-1150.
505. Citorik, R.J. Mimee, M. & Lu, T.K. Sequence-specific antimicrobials using efficiently delivered RNA-guided nucleases / R.J. Citorik, M. Mimee, T.K. Lu // *Nature Biotechnology*. - 2014. - Vol. 32, № 11. - P. 1141-1145.
506. Wylie, K.M. Weinstock, G.M. & Storch, G.A. Emerging view of the human virome / K.M. Wylie, G.M. Weinstock, G. A. Storch // *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. - 2012. - Vol. 160, № 4. - P. 283-290.
507. Minot, S. et al. Rapid evolution of the human gut virome / S. Minot et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2013. - Vol. 110, № 30. - P. 12450-12455.
508. Cui, L. Morris, A. & Ghedin, E. The human mycobiome in health and disease II. Cui, A. Morris, E. Ghedin // *Genome Medicine*. - 2013. - Vol. 5, № 7. - P. 63.
509. Underhill, D.M. & Iliev, I.D. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system / D.M. Underhill, I.D. Iliev // *Nature Reviews. Immunology*. - 2014. - Vol. 14, № 6. - P. 405-416.
510. Moon, C. & Stappenbeck, T.S. Viral interactions with the host and microbiota in the intestine / C. Moon, T.S. Stappenbeck // *Current Opinion in Immunology*. - 2012. - Vol. 24, № 4. - P. 405-410.
511. Shelburne, S.A. et al. Implementation of a Pan-Genomic Approach to Investigate Holobiont-Infected Microbe Interaction: A Case Report of a Leukemic Patient with Invasive Mucormycosis / S.A. Shelburne et al. // *PLoS One*. - 2015. - Vol. 10, № 11. - P. E0139851.
512. De Vlaminck, I. et al. Temporal response of the human virome to immunosuppression and antiviral therapy / I. De Vlaminck et al. // *Cell*. - 2013. - Vol. 155, № 5. - P. 1178-1187.

*Микробиом человека*

*Сведения об авторах*

Игорь Олегович Стома — кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней Белорусского государственного медицинского университета; врач-исследователь лаборатории Эрика Памера, Центр изучения микробов, воспаления и рака на базе Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга, г. Нью-Йорк, США. Стипендиат программы им. сенатора Фулбрайта.

ORCID ID: Igor Stoma; <https://orcid.org/0000-0003-0483-7329>

электронная почта: igor.stoma@gmail.com

Игорь Александрович Карпов — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней Белорусского государственного медицинского университета; главный внештатный инфекционист Министерства здравоохранения Республики Беларусь.

Л/ЗСУ' £\_

**БИБЛИОТЕКА**

БЕЛОРУССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
медицинского университета



Научное издание

Стома Игорь Олегович  
Карпов Игорь Александрович

МИКРОБИОМ ЧЕЛОВЕКА

Подписано в печать 12.11.2018. Формат 62x94 1/16. Бумага офсетная.  
Печать офсетная. Усл. печ. л. 6,98. Уч.-изд. л. 8,61. Тираж 500 экз. Заказ 6805.

Общество с ограниченной ответственностью «ДокторДизайн».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий № 1/298 от 18.04.2014.  
Ул. К. Либкнехта, 68-17, 220036, Минск.

Общество с ограниченной ответственностью «Артия Групп».  
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,  
распространителя печатных изданий № 2/33 от 23.12.2013.  
Ул. Октябрьская, 19, 220030, Минск.



В настоящей книге широко представлены результаты научных исследований коллектива Eric Ramer Lab (на фотографии). Лаборатория создана на базе Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга (г. Нью-Йорк, США) и сегодня является признанным мировым научным центром изучения микробиома человека.

ISBN 978-985-6913-91-7



9 789856 913917